

# **Design, Synthese und Biologische Testung neuartiger Chalkon-Derivate als ABCG2 Inhibitoren**

**Dissertation**

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

**Stefanie Kraege**

aus

Erfurt

**Bonn, 2016**

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Michael Wiese
2. Gutachter: Prof. Dr. Christa E. Müller

Tag der Promotion: 30.01.2017

Erscheinungsjahr: 2017

Meiner Familie



# Inhaltsverzeichnis

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>Einleitung</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1      | Multidrug Resistenz und Chemotherapie .....                     | 1         |
| 1.2      | ATP-binding cassette Transporter.....                           | 2         |
| 1.2.1    | ABCB1 (P-Glykoprotein, P-gp) .....                              | 4         |
| 1.2.2    | ABCC1 (Multidrug Resistance-associated Protein 1, MRP1) .....   | 7         |
| 1.2.3    | ABCG2 (Breast Cancer Resistance Protein, BCRP) .....            | 9         |
| 1.2.3.1  | Molekulare Struktur und physiologische Funktion von ABCG2 ..... | 9         |
| 1.2.3.2  | Substrate von ABCG2 .....                                       | 10        |
| 1.2.3.3  | Inhibitoren von ABCG2 .....                                     | 12        |
| 1.3      | Chalkone: Ein vielseitige Wirkstoffklasse .....                 | 14        |
| 1.4      | Zellbiologische Untersuchungen.....                             | 16        |
| 1.4.1    | Pheophorbid A Assay .....                                       | 17        |
| 1.4.2    | Hoechst 33342 Assay .....                                       | 19        |
| 1.4.3    | Calcein AM Assay .....  | 20        |
| 1.4.4    | MTT Assay.....  | 22        |
| <b>2</b> | <b>Ziele der Arbeit</b>   | <b>23</b> |
| <b>3</b> | <b>Projekt I: Pyrazole als ABCG2 Inhibitoren</b>                | <b>25</b> |
| 3.1      | Pyrazole: Ein Überblick .....                                   | 25        |
| 3.2      | Synthese und Testung der Pyrazoline .....                       | 27        |
| 3.2.1    | Synthese der Pyrazoline .....                                   | 28        |
| 3.2.2    | Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 .....                  | 29        |
| 3.3      | Synthese der Pyrazole.....                                      | 30        |
| 3.4      | Biologische Testung der Pyrazole.....                           | 35        |
| 3.4.1    | Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 .....                  | 35        |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 3.4.2    | Bestimmung der inhibitorische Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1 ..... | 39        |
| 3.4.3    | MTT Assay - Zytotoxizität ausgewählter Pyrazole .....                   | 42        |
| 3.5      | Resümee der Pyrazole .....  | 44        |
| <b>4</b> | <b>Projekt II: Acryloylphenylcarboxamide</b>                            | <b>45</b> |
| 4.1      | Acryloylphenylcarboxamide – Serie A.....                                | 46        |
| 4.1.1    | Synthese der Acryloylphenylcarboxamide .....                            | 47        |
| 4.1.2    | Biologische Testung der Acryloylphenylcarboxamide – Serie A .....       | 48        |
| 4.1.2.1  | Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 .....                          | 48        |
| 4.1.2.2  | Bestimmung der inhibitorische Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1 ....  | 53        |
| 4.1.2.3  | MTT Assay - Zytotoxizität und Aufhebung der MDR .....                   | 57        |
| 4.1.3    | Resümee der Acryloylphenylcarboxamide – Serie 1 .....                   | 60        |
| 4.2      | Methoxy-substituierte Acryloylphenylcarboxamide – Serie B .....         | 61        |
| 4.2.1    | Synthese der Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide .....     | 62        |
| 4.2.2    | Biologische Testung der Acryloylphenylcarboxamide – Serie B .....       | 64        |
| 4.2.2.1  | Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 .....                          | 64        |
| 4.2.2.2  | Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1 ...  | 68        |
| 4.2.2.3  | MTT Assay - Zytotoxizität und Aufhebung der MDR .....                   | 71        |
| 4.2.3    | Resümee der Acryloylphenylcarboxamide – Serie 2 .....                   | 74        |
| 4.3      | ATPase Assay der Acryloylphenylcarboxamide .....                        | 75        |
| 4.4      | Acryloylphenylcarboxylate .....   | 76        |
| 4.4.1    | Synthese der Acryloylphenylcarboxylate .....                            | 77        |
| 4.4.2    | Biologische Testung der Acryloylphenylcarboxylate .....                 | 78        |
| 4.4.2.1  | Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 .....                          | 78        |
| 4.4.2.2  | Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1 ...  | 79        |
| 4.4.3    | Konformationsanalyse der Verbindungen 129 und 153 .....                 | 80        |
| 4.4.4    | Resümee der Acryloylphenylcarboxylate .....                             | 82        |
| <b>5</b> | <b>Projekt III: Chinazolin-Chalkone</b>                                 | <b>83</b> |
| 5.1      | Chinazolin-Chalkone: Ein Überblick.....                                 | 83        |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 5.2      | Synthese der Chinazolin-Chalkone .....   | 86         |
| 5.3      | Biologische Testung der Chinazolin-Chalkone – Serie 1 .....  | 88         |
| 5.3.1    | Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 .....   | 88         |
| 5.3.2    | Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1 .....   | 93         |
| 5.3.3    | ATPase Assay der Chinazolin-Chalkone .....   | 96         |
| 5.3.4    | Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Verbindung 197 auf<br>Akkumulation in ABCG2 überexprimierenden Zellen ..... | 98         |
| 5.3.5    | MTT Assay - Zytotoxizität und Aufhebung der MDR .....  | 101        |
| 5.3.6    | Resümee der Chinazolin-Chalkone – Serie 1 .....  | 105        |
| 5.4      | Biologische Testung der Chinazolin-Chalkone – Serie 2 .....  | 106        |
| 5.4.1    | Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 .....   | 107        |
| 5.4.2    | Bestimmung der Inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1 .....   | 110        |
| 5.4.3    | MTT Assay - Zytotoxizität .....  | 111        |
| 5.4.4    | Resümee der Chinazolin-Chalkone – Serie 2 .....  | 111        |
| 5.5      | (Photo)-Isomerisierung .....   | 112        |
| <b>6</b> | <b>Zusammenfassung</b>   | <b>117</b> |
| <b>7</b> | <b>Experimenteller Teil</b>  | <b>123</b> |
| 7.1      | Synthese .....   | 123        |
| 7.1.1    | Allgemeine Materialien und Methoden .....  | 123        |
| 7.1.2    | Allgemeine Bemerkungen .....   | 125        |
| 7.1.3    | Synthesevorschriften und Monographien .....  | 125        |
| 7.1.3.1  | Darstellung der Benzochalkone .....  | 125        |
| 7.1.3.2  | Darstellung der Benzoflavone .....   | 138        |
| 7.1.3.3  | Darstellung der Pyrazoline .....   | 151        |
| 7.1.3.4  | Darstellung der Pyrazole .....   | 153        |
| 7.1.3.5  | Darstellung von 4'-Methoxy- und 4',6'-Dimethoxy-2'-aminoacetophenon  | 166        |
| 7.1.3.6  | Darstellung der Aminochalkone .....  | 167        |
| 7.1.3.7  | Darstellung der 2'-Hydroxy-4'-methoxychalkone .....  | 172        |
| 7.1.3.8  | Darstellung der Acryloylphenylcarboxamide .....  | 173        |
| 7.1.3.9  | Darstellung der Acryloylphenylcarboxylate .....  | 212        |

|                              |   |            |
|------------------------------|---|------------|
| 7.1.3.10                     | Darstellung der Chinazolin-4(3 <i>H</i> )-one .....                                   | 216        |
| 7.1.3.11                     | Darstellung der 4-Chlorchinazoline.....   | 221        |
| 7.1.3.12                     | Darstellung der 4-Anilinchinazoline .....   | 225        |
| 7.1.3.13                     | Darstellung der Chinazolin-Chalkone .....   | 231        |
| 7.2                          | Biologische Testung .....   | 255        |
| 7.2.1                        | Materialien.....  | 255        |
| 7.2.1.1                      | Chemikalien .....   | 255        |
| 7.2.1.2                      | Materialen für Zellkultur und Assays .....  | 256        |
| 7.2.1.3                      | Gerätschaften.....  | 257        |
| 7.2.1.4                      | Krebs-HEPES-Puffer (KHP).....   | 258        |
| 7.2.2                        | Zellkultur .....  | 259        |
| 7.2.2.1                      | Zelllinien .....  | 259        |
| 7.2.2.2                      | Inkulturnahme der Zellen .....  | 260        |
| 7.2.2.3                      | Zellkultivierung .....  | 260        |
| 7.2.2.4                      | Kryokonservierung der Zellen .....  | 261        |
| 7.2.2.5                      | Zellzahlbestimmung mittels CASY1 Modell TT .....                                      | 261        |
| 7.2.3                        | Durchführung der Assays.....  | 262        |
| 7.2.3.1                      | Pheophorbid A Assay.....  | 262        |
| 7.2.3.2                      | Hoechst 33342 Assay .....   | 263        |
| 7.2.3.3                      | Calcein AM Assay.....   | 265        |
| 7.2.3.4                      | MTT Assay .....   | 266        |
| 7.2.4                        | Berechnung von IC <sub>50</sub> und GI <sub>50</sub> mittels GraphPad Prism 5.0 ..... | 268        |
| <b>Literaturverzeichnis</b>  |   | <b>269</b> |
| <b>Tabellenverzeichnis</b>   |   | <b>287</b> |
| <b>Abbildungsverzeichnis</b> |   | <b>289</b> |
| <b>Publikationen</b>         |   |            |
| <b>Verfassererklärung</b>    |   |            |



# Abkürzungsverzeichnis

|                  |   |
|------------------|---|
| ABC              | ATP-binding cassette  |
| ACN              | Acetonitril   |
| AcOH             | Essigsäure  |
| ADP              | Adenosindiphosphat  |
| ATP              | Adenosintriphosphat   |
| äquiv.           | äquivalent  |
| BCRP             | Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2)                    |
| Calcein AM       | Calcein Acetoxymethylester                                  |
| Cs A             | Cyclosporin A   |
| d                | Dublett   |
| DC               | Dünnschichtchromatographie                                  |
| DCM              | Dichlormethan   |
| dd               | Dublett vom Dublett   |
| $\delta$         | chemische Verschiebung                                      |
| DMF              | Dimethylformamid  |
| DMSO             | Dimethylsulfoxid  |
| dt               | Dublett vom Triplett  |
| EA               | Elementaranalyse  |
| EtOH             | Ethanol   |
| FKS              | Fetales Kälberserum   |
| FTC              | Fumitremorgin C   |
| GI <sub>50</sub> | Konzentration bei der 50 % des Zellwachstums gehemmt werden |
| HCl              | Salzsäure   |
| IC <sub>50</sub> | mittlere inhibitorische Konzentration                       |
| I <sub>max</sub> | maximaler inhibitorischer Effekt in Relation zum Standard   |
| <i>J</i>         | Kopplungskonstante  |
| KHP              | Krebs-HEPES Puffer  |
| LC-MS            | Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie                  |
| m                | Multipllett   |

|                   |  |
|-------------------|--|
| MDR               | Multidrug Resistenz  |
| MeOH              | Methanol   |
| MRP1              | Multidrug Resistance-associated Protein 1 (ABCC1)                |
| MTT               | 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid       |
| MW                | Mikrowelle   |
| NBD               | Nukleotidbindungsdomäne  |
| n.e.              | nicht ermittelt  |
| n.e. <sup>a</sup> | nicht ermittelt, aufgrund schlechter Löslichkeit                 |
| n.e.*             | nicht ermittelbar, da topfixiert auf Cs A                        |
| PBS               | Phosphatgepufferte Salzlösung                                    |
| P-gp              | P-glykoprotein (ABCB1)   |
| pIC <sub>50</sub> | negativer dekadischer Logarithmus aus dem IC <sub>50</sub> -Wert |
| ppm               | parts per million  |
| q                 | Quartett   |
| RT                | Raumtemperatur   |
| s                 | Singulett  |
| SD                | Standardabweichung   |
| t                 | Triplett   |
| td                | Triplett vom dublett   |
| THF               | Tetrahydrofuran  |
| TKIs              | Tyrosinkinaseinhibitoren   |
| TMD               | Transmembranäre Domäne   |

# 1 Einleitung

## 1.1 Multidrug Resistenz und Chemotherapie

Die effektive Behandlung und Kontrolle von Krebserkrankungen ist trotz medizinischem Fortschritt noch immer nicht greifbar. Laut Welt-Krebs-Bericht 2014 der Internationalen Agentur für Krebserkrankungen (IARC), einer Unterorganisation der WHO, wurden im Jahr 2012 ca. 14 Millionen Neuerkrankungen weltweit registriert und 8,2 Millionen Menschen starben an Krebs [1]. Operative Entfernung, Strahlentherapie und insbesondere die Chemotherapie bilden die zentralen Säulen der Krebstherapie. Chemotherapie ist durch die systemische Wirkung sogenannter Zytostatika gekennzeichnet, welche in den Teilungszyklus von Zellen eingreifen. Während einige Patienten erfolgreich auf diesem Wege behandelt werden können, sprechen andere Patienten nur unzureichend oder überhaupt nicht auf die Therapie an.

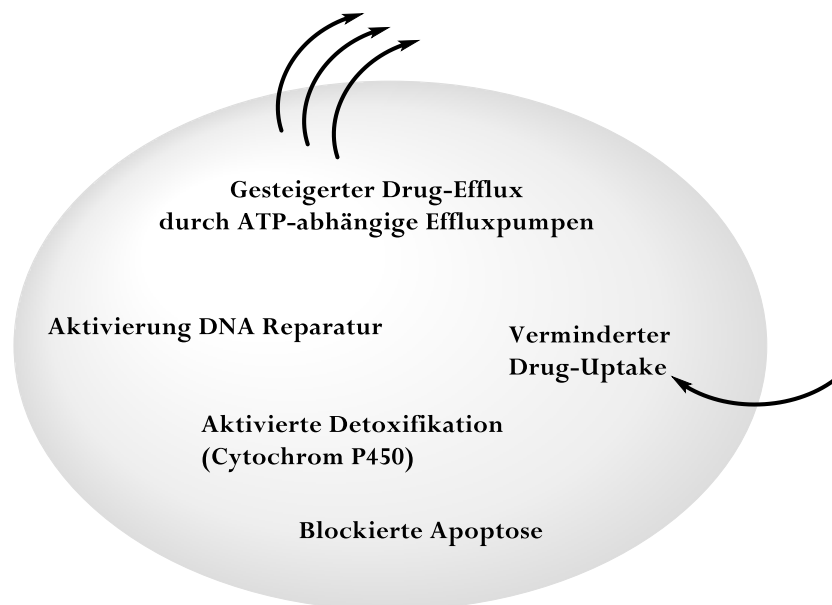


Abbildung 1.1 Mechanismen, involviert in der Entwicklung von Multidrug Resistenz (MDR) nach Gottesman et al. (2002) [2].

Unglücklicherweise zeigt der überwiegende Teil an Krebsarten eine bereits vorhandene intrinsische Resistenz gegenüber strukturell unterschiedlichen Zytostatika oder entwickelt eine Resistenz im Laufe der Behandlung, ein Phänomen das als Multidrug Resistenz (MDR) bezeichnet wird.

In Folge der MDR spricht die Krebszelle nicht mehr im benötigten Ausmaß auf das Zytostatikum an, was zwangsläufig zum Scheitern der Therapie führt. Um neue Strategien zur Überwindung der MDR und damit zur Steigerung der Effizienz von Chemotherapie zu entwickeln, ist zunächst ein Verständnis der zellulären Mechanismen der MDR in humanen Krebszellen notwendig. Die im Folgenden aufgezählten zellulären Mechanismen stehen im Zusammenhang mit MDR: 1. Überexpression von Efflux-Transportproteinen, insbesondere den ATP-binding cassette (ABC) Transportern und damit erhöhter Drug-Efflux; 2. Reduzierter Drug-Uptake; 3. Aktivierung des Detoxifikationssystems, wie z.B. DNA Reparatur und Cytochrom P450 sowie 4. Fehlerhafte Apoptose (Abbildung 1.1) [2]. Der prominenteste Mechanismus involviert in MDR ist die Überexpression der ABC Transportproteine, wobei in diesem Kontext insbesondere der ABCB1, ABCC1 und ABCG2 Transporter diskutiert werden [3–5]. Die klinische Relevanz jener Transportproteine ist bis dato nicht vollständig aufgeklärt. Obwohl zahlreiche *in vitro* und vereinzelte *in vivo* Studien auf ihre Rolle in der MDR verweisen, kann davon ausgegangen werden, dass eine signifikante Zytostatikaresistenz nicht allein auf eine Überexpression von ABC Transportern in Tumorgewebe zurückzuführen ist [6–9].

## 1.2 ATP-binding cassette Transporter

ABC Transporter zählen zur Gruppe der aktiven Transportproteine und sind sowohl in Prokaryoten als auch Eukaryoten vorzufinden. Als eine der größten Superfamilien membranständiger Proteine erfüllen sie eine Vielzahl von physiologischen Funktionen, wobei sie spezifische Substrate gegen einen elektrochemischen Gradienten durch die Membran befördern. Sie können sowohl als Importer, zum Transport notwendiger Nährstoffe in die Zelle, sowie als Exporter, zum Transfer von Toxinen, Wirkstoffen und Lipiden aus der Zelle fungieren. Während Exporter in Eukaryoten und Prokaryoten vorkommen, scheinen die Importer exklusiv in Prokaryoten vertreten zu sein [10,11]. Die dazu benötigte Energie beziehen die ABC Transporter durch Bindung und Hydrolyse von Adenosintriphosphat (ATP) zu Adenosindiphosphat (ADP).

Bis dato wurden 48 humane ABC Transportproteine isoliert und identifiziert und sind abhängig von ihrer Genstruktur, Sequenzhomologie und Anzahl der Domänen in 7 Subfamilien

untergliedert worden, von ABCA bis ABCG [12,13]. Die charakteristische Architektur der funktionellen Einheit setzt sich mindestens aus zwei transmembranären Domänen (TMD) und zwei im Zytoplasma lokalisierten Nukleotidbindungsdomänen (NBD) zusammen. Die TMDs wiederum bestehen jeweils aus sechs transmembranären Helices (Abbildung 1.2). Einige Transporter bestehen lediglich aus einer TMD und einer NBD und werden als sogenannte Halbtransporter bezeichnet, wie z.B. ABCG2. Um als aktive Transporter zu fungieren, ist eine Oligomerisierung notwendig. Die Nukleotidbindungsdomäne verfügt über mehrere charakteristische Aminosäuresequenzen, wie z.B. die typischen Motive „Walker A“ und „Walker B“ sowie die dazwischenliegende spezifische ABC-Signatur („C-Motiv“) [14,15]. Walker A und B spielen eine Rolle bei der Hydrolyse von ATP zu ADP + P<sub>i</sub> (Phosphat) und somit bei der Bereitstellung der benötigten Energie. Während einige Transporter eine Substratspezifität aufweisen, transportieren andere ein weitaus breiteres Spektrum an strukturell nicht verwandten Verbindungen.

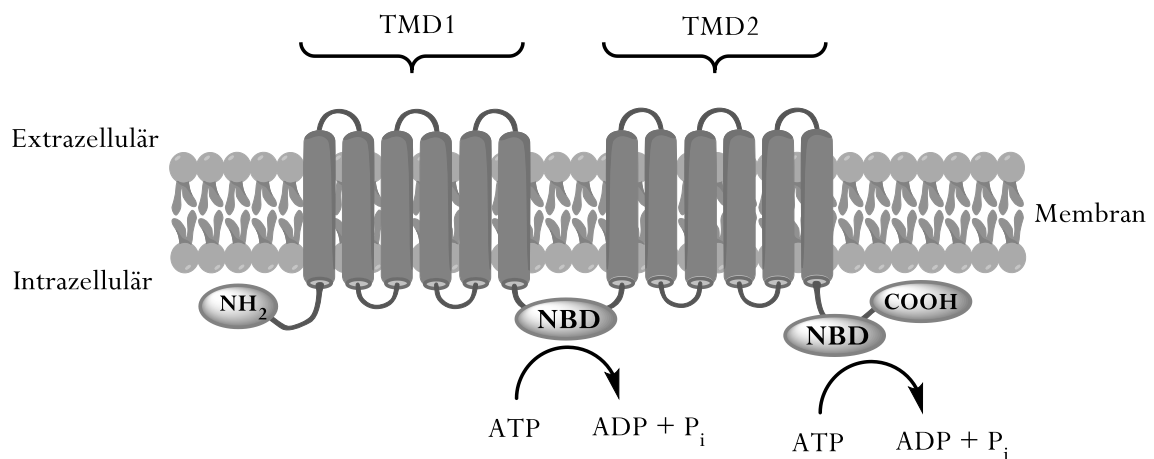


Abbildung 1.2: Topologiemodell eines typischen ABC Transporters.

Der Mechanismus des Transportzyklus von ABC Transportproteinen ist bisher nicht vollständig geklärt. Jedoch existieren einige Modelle, welche in diesem Zusammenhang diskutiert werden. Dabei beziehen sich die biochemischen Daten auf das ABCB1 Protein, dienen jedoch als Grundlage für die anderen Transportproteine und können beispielsweise auf ABCC1 und ABCG2 übertragen werden. Zu den gängigsten Modellen zählen das „ATP-Switch Modell“ [16], das „Alternierende Modell“ [17] und das „Occlusion-induced-Switch Modell“ [18]. Grundsätzlich besteht der Transportzyklus aus einer Reihe von Schritten: 1. Direkte Bindung des Substrates an die High-Affinity Site der TMDs, 2. Bindung von 2 Molekülen ATP an die NBDs, 3. Dimerisierung der NBDs, 4. Konformationsänderung der TMDs, 5. Freisetzung des Substrates von der Low-Affinity Site und 6. Hydrolyse von ATP und Freisetzung von ADP und Phosphat führt zur Herstellung des Grundzustandes des Transporters. Die jeweiligen Modelle schließen diese Grundschrte ein und

unterscheiden sich in der Spezifikation dieser, insbesondere in der Bindung des ATP. In der Literatur existieren einige weitere Modelle zur Beschreibung des möglichen Transportzyklus [19–21].

Die ABC Transporter erfüllen innerhalb des Organismus eine Vielzahl physiologischer Funktionen. Dazu zählt zumeist die Verteidigung empfindlicher Gewebe gegenüber Xenobiotika und toxischen endogenen Molekülen [22–24]. So schützen beispielsweise die Expression von ABCB1 und ABCG2 in der Plazenta den Fötus vor schädlichen Fremdstoffen und erfüllen ebenfalls eine Barrierefunktion innerhalb der Blut-Hirn-Schranke [25–27]. Des Weiteren zählen zu den transportierten Substraten auch Aminosäuren, Peptide, Vitamine, Zucker, Cholesterol, einige essentielle Proteine sowie Antibiotika, Zytostatika und andere Arzneistoffe [28,29]. Durch das Eingreifen der ABC Transporter in die Absorption, Distribution, Metabolisierung und Elimination der Arzneistoffe wird deren Präsenz in den gewünschten Zielorganen und die Bioverfügbarkeit stark beeinflusst [29–31].

Die volle Bedeutung der ABC Transporter zeigt sich im Auftreten humaner genetischer Defekte, deren Ursache in Mutationen der kodierenden Gene liegt. Bis dato wurden 17 Gene mit vorliegenden Mutationen und die damit in Verbindung stehenden Erkrankungen identifiziert. Die Entwicklung genetischer Erkrankungen spiegelt sich in einer reduzierten oder fehlenden Funktion der durch die ABC Gene kodierten Proteine wieder. So verursachen beispielsweise Mutationen in ABCC7 zystische Fibrose, in ABCA4 Makuladegeneration, in ABCC2 das Dubin-Johnson-Syndrom und in ABCB2 und ABCB3 Immunschwäche [22,28].

Im Fokus dieser Arbeit steht daher der Zusammenhang von ABCB1, ABCC1 und insbesondere ABCG2 und dessen Überexpression in Krebszellen mit der damit einhergehenden MDR gegenüber Zytostatika [32–34]. Eine detaillierte Beschreibung der MDR assoziierten Transportproteine erfolgt innerhalb der folgenden Kapitel.

### 1.2.1 ABCB1 (P-Glykoprotein, P-gp)

Juliano und Ling [32] identifizierten im Jahre 1976 in der Colchicin-resistenten Zelllinie von Ovarien des chinesischen Hamsters (CHO) den ersten MDR-assozierten ABC Transporter. ABCB1, auch bekannt als Multidrug-Resistance-Protein 1 (MDR1) oder P-Glykoprotein (P-gp). Das Protein weist ein Molekulargewicht von 170 kDa auf und setzt sich aus 1280 Aminosäuren zusammen. Das apikale Membranprotein ist in verschiedensten Geweben mit physiologischer

Barrierefunktion, wie Leber, Niere, Plazenta, Nebenniere, Darm und Blut-Hirn-Schranke lokalisiert und erfüllt dort protektive Funktionen gegen Xenobiotika und zelluläre Toxine [2,27,35,36]. Die Überexpression des humanen ABCB1 führt zu einer signifikanten Resistenz gegenüber einem breiten Spektrum neutraler und kationischer hydrophober Zytostatika. Substrate, wie Taxane (Paclitaxel), Epipodophyllotoxine (Etoposid, Teniposid), *Vinca* Alkaloide (Vinblastin, Vincristin), Anthrazykline (Doxorubicin, Daunorubicin) und Antibiotika (Actinomycin D) werden durch den aktiven Transport aus der Zelle ausgeschleust. Dies resultiert in einer geringeren intrazellulären Konzentration und führt zur Multidrug Resistenz [2,37–39].

Strukturell weist ABCB1 den typischen Aufbau eines eukaryotischen ABC Transportproteins auf und setzt sich aus zwei homologen Hälften zusammen. Diese bestehen jeweils aus einer TMD mit je sechs  $\alpha$ -Helices und einer intrazellulären NBD. Die beiden Homologe sind untereinander durch einen 75 Aminosäuren langen Linker miteinander verknüpft [40]. Wie zuvor erwähnt, benötigt das Protein für den aktiven Transport von Molekülen aus der Zelle die Bereitstellung von Energie durch Hydrolyse von ATP. ABCB1 ist im ersten extrazellulären Loop an drei Stellen (Asparaginreste) N-glykosiliert, was keinen Einfluss auf die Transportfunktion ausübt, jedoch vermutlich im Zusammenhang mit der korrekten Faltung des Proteins im Endoplasmatischen Retikulum steht [41,42].

Die ersten Homologiemodelle von ABCB1 beruhten auf der Kristallstruktur des Transporters gewonnen aus Bakterien. Rosenberg et al. [43] bestätigten mit Hilfe elektronenmikroskopischer Studien den strukturellen Aufbau von ABCB1 isoliert aus den Ovarienzellen des chinesischen Hamsters. Homologiemodelle dienen sowohl der Identifizierung der Struktur von ABCB1 als auch der Lokalisierung von Bindestellen. Im Jahre 2009 wurde die Kristallstruktur von Maus P-gp aufgeklärt und publiziert, welche eine 87 %-ige Sequenzidentität zu humanen ABCB1 aufweist [44]. Jin et al. [45] korrigierten diese 2012 durch die Kristallstruktur von *Caenorhabditis elegans* P-gp.

Begründet im überwiegend lipophilen Charakter der transportierten Verbindungen, akkumulieren diese innerhalb der Phospholipiddoppelschicht der Zellmembran. Bis dato ist der exakte Mechanismus des Transportes von Substraten nach ihrer Bindung durch ABCB1 aus der Membran in den Extrazellulärraum nicht explizit aufgeklärt [46]. Jedoch existieren zwei Modelle, die den Ablauf des Transportes erklären könnten und heute weitestgehend akzeptiert sind, das „Flippase Modell“ und das „Hydrophober Staubsauger Modell (Hydrophobic Vacuum Cleaner, HVC)“. Nach Higgins et al. [47] wird das Substrat innerhalb der inneren Phospholipidschicht der

Zellmembran erkannt und in die äußere Phospholipidschicht transportiert, wodurch es anschließend in den extrazellulären Raum diffundieren kann. Zurückzuführen ist diese Annahme auf die Enzymklasse der Flippasen, welche auch namensgebend waren. Das Staubsauger Modell postuliert die passive Diffusion des Substrates in die innere Phospholipidschicht der Zellmembran, wo es von ABCB1 erkannt und direkt in den extrazellulären Raum transportiert wird [48].

Wie zuvor erwähnt, interagiert ABCB1 mit einer Vielzahl von strukturell nicht verwandten Verbindungen. Darunter finden sich natürlich vorkommende Produkte, Zytostatika, Steroide, diverse Peptide und viele mehr. Häufig zeigen die Substrate einen leicht amphiphilen Charakter und vereinen oft aromatische Ringe und N-Atome innerhalb ihrer Struktur. Die Identifizierung der Substrate erfolgte überwiegend in resistenten ABCB1 überexprimierenden Zelllinien. Eine Auswahl an Substraten ist in Tabelle 1.1 aufgeführt.

*Tabelle 1.1: Substrate und Inhibitoren von ABCB1 (Auswahl nach [27,49–55]).*

---

| Substrate   | Inhibitoren  |
|---|--|
| <u>Calciumkanalblocker:</u> Verapamil, Diltiazem  | <u>1.Generation:</u> Cyclosporin A, Chinin und   |
| <u>Antibiotika:</u> Erythromycin, Valinomycin   | Chinidin, Nifedipin, Verapamil, Amiodaron  |
| <u>Zytostatika:</u> Etoposid, Topotecan, Daunorubicin, Doxorubicin, Mitoxantron, Vinblastin, Vincristin, Imatinib, Gefitinib, Paclitaxel, Irinotecan (Metabolit: SN-38) | <u>2.Generation:</u> Dexverapamil, PSC-833 (Valspodar), Biricodar (VX-710)   |
| <u>HIV-Proteaseinhibitoren:</u> Ritonavir, Saquinavir   | <u>3.Generation:</u> Tariquidar (XR-9576), Laniquidar (R101933), Zosuquidar (LY335979), LY475776, Elacridar (GF120918) |
| <u>Antihistaminika:</u> Terfenadin, Cimetidin   |  |
| <u>Opioide:</u> Loperamid, Morphin  |  |
| <u>Immunsuppressiva:</u> Tacrolimus, Cyclosporin A  | <u>Andere:</u> Flavonoide, Curcuminoide, Disulfiram  |
| <u>Corticoide:</u> Hydrocortison, Dexamethason  |  |
| <u>Fluoreszenzfarbstoffe:</u> Calcein AM, Hoechst 33342, Rhodamin 123   |  |

---

Begründet in der Affinität, Toxizität und Spezifität der ABCB1 Inhibitoren erfolgte die Klassifizierung in drei Generationen. Eine Zusammenstellung diverser Beispiele findet sich in Tabelle 1.1. Bestandteil der 1. Generation sind Arzneistoffe, welche bereits eine Zulassung in anderen Indikationsgebieten besitzen und damit klinisch erprobt sind. Tsuruo et al. [56] entdeckte 1981, dass



der Calciumkanalblocker Verapamil die Resistenz von P388 Tumorzellen gegenüber Vincristin *in vitro* und *in vivo* aufzuheben und damit die Zytotoxizität des Chemotherapeutikums zu steigern vermag [57]. Damit wurde Verapamil zu einer Art Prototyp der ABCB1 Inhibitoren. Ein weiteres bekanntes Beispiel ist das Immunsuppressivum Cyclosporin A [58–60]. Begründet in ihrer geringen Affinität gegenüber ABCB1 und dass einige auch als Substrate fungieren, wirken diese Vertreter erst in sehr hohen Konzentrationen als Inhibitoren. Daraus ergibt sich ein essentielles Problem der Modulatoren der 1. Generation, denn meist liegen die wirksamen Konzentrationen über denen der individuellen therapeutischen Breite. Die pharmakologischen Nebenwirkungen und die damit verbundene erhöhte Toxizität führte dazu, dass jene Vertreter nicht für den klinischen Gebrauch geeignete waren [61,62]. Im Fokus der 2. Generation lag die Entwicklung nicht toxischer und potenterer Abkömmlinge der ersten Generation. Dexverapamil, das *R*-Enantiomer von Verapamil zeigte äquipotente Aktivität gepaart mit einer geringeren Toxizität [63,64]. Das am intensivsten studierte und gut charakterisierte PSC-833 (Valspodar) ist ein nicht immunsupprimierend wirkendes Cyclosporin A-Analogon und zeigte im Vergleich eine gesteigerte inhibitorische Aktivität *in vitro* und *in vivo* [65,66]. Da jene Analoga jedoch teilweise Substrate des Cytochrom P450 3A4 Enzyms sind, wie auch die Vielzahl der Zytostatika, resultiert das Zusammenspiel in unvorhersehbaren pharmakokinetischen Interaktionen [67]. Basierend auf der Analyse von Struktur-Wirkungs-Beziehungen entstand die 3. Generation von ABCB1 Inhibitoren mit Aktivitäten im nanomolaren Konzentrationsbereich. Zu den bekanntesten Vertretern zählen die dualen Inhibitoren (ABCB1 / ABCG2) Elacridar [68,69] und Tariquidar [70].

### 1.2.2 ABCC1 (Multidrug Resistance-associated Protein 1, MRP1)

Es dauerte 16 Jahre ehe der zweite prominente MDR assoziierte und klinisch relevante ABC Transporter identifiziert wurde. Cole et al. [71] entdeckten 1992 das Multidrug Resistance-associated Protein 1 (MRP1), kodiert durch ABCC1, in der mit Doxorubicin inkubierten multidrugresistenten H69AR Lungenkrebszelllinie, welche nicht ABCB1 überexprimierte. Mit einem Molekulargewicht von 190 kDa setzt es sich aus 1531 Aminosäuren zusammen, zählt zur Unterfamilie C der ABC Superfamilie und umfasst 12 Proteine. Davon stehen 9 Proteine im Zusammenhang mit dem Transport von Arzneistoffen (inklusive MRP1/ABCC1 und MRP2/ABCC2) [72]. Neben ABCC2, ABCC3, ABCC6, ABCC7 und ABCC10, den sogenannten „langen“ MRPs, ist der molekulare Aufbau von ABCC1 durch eine Struktur bestehend aus fünf Domänen und nicht wie üblich vier charakterisiert. Zu den zwei NBDs kommen die TMD1 und TMD2, jeweils

bestehend aus sechs  $\alpha$ -Helices, sowie eine zusätzliche TMD0, zusammengesetzt aus lediglich fünf  $\alpha$ -Helices. Die Extradomäne ist N-terminal sowie extrazellulär lokalisiert [73]. Die TMD1 und 2 formen die „Pore“ innerhalb der Membran über welche die Substrate aus der Zelle transportiert werden, wobei die benötigte Energie zum aktiven Transport aus der Bindung und Hydrolyse von ATP gewonnen wird [71,74]. Bis heute ist die genaue Funktion der TMD0 unklar.

Abgesehen von der Überexpression in diversen Krebsformen, wie z.B. Leukämie und kleinzelligem Lungenkrebs, wird ABCC1 auch in einem breiten Spektrum von normalen Geweben exprimiert, wie z.B. der Lunge, der Haut, dem Dünndarm, den Testes, der Niere, der Plazenta und den Skelettmuskelzellen [75,76]. Weiterhin ist ABCC1 auf der basolateralen Zelloberfläche von polarisierten Epithelzellen lokalisiert (überwiegend), wodurch in diversen Geweben der Efflux von Substraten in die Blutbahn zustande kommt. Dagegen sind ABCC2, ABCG2 und auch ABCB1 auf der apikalen Membran polarisierter Zellen vorzufinden. Die physiologische Rolle besteht hauptsächlich in der Schutzfunktion von Geweben gegenüber den toxischen Effekten von Xenobiotika [77].

Die klinische Relevanz von ABCC1 liegt in der MDR-assoziierten Rolle begründet. Resultierend in dem Efflux einer Vielzahl von hydrophoben und hydrophilen antineoplastischen Agenzien wird die Akkumulation der Wirkstoffe innerhalb der Zelle reduziert und verursacht eine Resistenz der Tumorzellen. Zu den Substraten von ABCC1 zählen unter anderem Vincristin, Etoposid, Doxorubicin, Daunorubicin und Methothrexat als zytotoxische/antitumorale Medikamente. Eine Besonderheit von ABCC1 liegt im Transport der meisten hydrophoben und kationischen Arzneistoffe in Kombination mit Glutathion (GSH). In lebenden Zellen liegt GSH in millimolaren Konzentrationen vor und erweitert durch den teilweise vorliegenden Cotransport das Spektrum der durch ABCC1 transportierten Verbindungen [78]. Zahlreiche anionische Verbindungen werden konjugiert an GSH, Glukuronid oder Sulfat transportiert, zahlreiche andere nichtkonjugiert. Weiterhin werden auch einige Antibiotika, wie Ciprofloxacin und Grepafloxacin, Statine (z.B. Atorvastatin) sowie Calcein AM als Fluoreszenzfarbstoff transportiert. Bis dato konnten mehrere Substrate des Transporters identifiziert werden und im Hinblick auf deren strukturelle Vielfalt existieren noch viele weitere, die es noch zu entdecken gilt [11].

Auf dem Gebiet der Entwicklung neuer und spezifischer Inhibitoren von ABCC1 ist bis heute im Vergleich zu ABCB1 nur wenig zu verzeichnen, jedoch werden verschiedene Ansatzpunkte verfolgt. Das Chinazolin-Derivat MK-571, ursprünglich als Cysteinyl-Leukotrien-Rezeptor 1 Antagonist zur Behandlung von Asthma entwickelt, zählt zu den üblich verwendeten MRP1

Inhibitoren. Dieser hemmt kompetitiv den Transport von LTC<sub>4</sub> (Leukotrien C<sub>4</sub>) und sensitiviert multidrugresistente Zellen [79]. Jedoch übt es diesen Effekt auch auf andere ABCC Proteine aus. Weitere Leukotrien-Rezeptor-Antagonisten mit inhibierender Wirkung auf ABCC1 sind unter anderem ONO-1078 und LY171883 [80–82]. Wesentlich vielversprechendere Inhibitoren sind in der Klasse der Cyclohexyl-verlinkten trizyklischen Isoxazole zu finden. Der potenteste Vertreter (LY465803) hemmt kompetitiv und selektiv den Transport durch ABCC1 in Anwesenheit von Glutathion [83]. Viele ABCC1 Inhibitoren stammen aus den Reihen klinischen bekannter Arzneistoffe, unter anderem Probenecid [84], Indometacin [85], Verapamil und Cyclosporin A [86] und daraus entwickelte Analoga. Auch in der Natur vorkommende Produkte, wie z.B. Agosterol A [87] und das Isoflavonoid Genistein [88] zeigten eine inhibitorische Aktivität gegenüber ABCC1. Die nach dem Vorbild von Raloxifen designten und synthetisierten Pyrrolo- und Indolopyrimidine, beschrieben durch Wang et al. [89,90], gelten bis dato als die effektivsten Inhibitoren von ABCC1.

### 1.2.3 ABCG2 (Breast Cancer Resistance Protein, BCRP)

Im Jahre 1998 entdeckten Doyle *et al.* [91] den Halbtransporter ABCG2 (Breast Cancer Resistance Protein/BCRP) in der multidrugresistenten Brustkrebszelllinie MCF-7/AdrVp, welche keinen der anderen MDR Transporter exprimiert (ABCB1/ABCC1). Nahezu zeitgleich entdeckten weitere Arbeitsgruppen zwei fast identische Proteine zu ABCG2, lediglich mit einigen Aminosäuren Unterschied. Einmal das sogenannte Mitoxantron resistente Protein (MXR) [92] und das humane Placenta Protein (ABCP) [93]. Dies zeigte, dass ABCG2 nicht ausschließlich auf die Expression in Brustgewebe und Krebszellen beschränkt ist. Während eine gewisse Übereinstimmung in der Proteinsequenz der NBDs zwischen ABCG2 und ABCB1/ABCC1 besteht, ist keinerlei Übereinstimmung der TMDs vorhanden. Weiterhin verweisen Studien mit ABCG2 cDNA transfizierten Zellen auf eine Resistenzentwicklung gegenüber einem breiten Spektrum an Zytostatika, wie z.B. Mitoxantron und Topotecan [91,92].

#### 1.2.3.1 Molekulare Struktur und physiologische Funktion von ABCG2

Das Membranprotein ABCG2 besitzt ein Molekulargewicht von 72 kDa und setzt sich aus 655 Aminosäuren zusammen [91,94]. Als ein Vertreter der sogenannten Halbtransporter besteht es lediglich aus einer N-terminalen NBD und einer C-terminalen TMD. Um als voll funktionstüchtiger Transporter zu agieren, wird mindestens eine Dimerisierung des Proteins vorausgesetzt.

Der oligomere Status ist bisher nicht explizit charakterisiert. Vermutet wurden Dimere, Tetramere, Oktamere sowie Dodekamere, jedoch waren die Studien häufig limitiert durch die Extraktion von ABCG2 aus der Membran. Aktuelle Studien stützen die Annahme einer Ausbildung des Transportproteins als Tetramer [95–97].

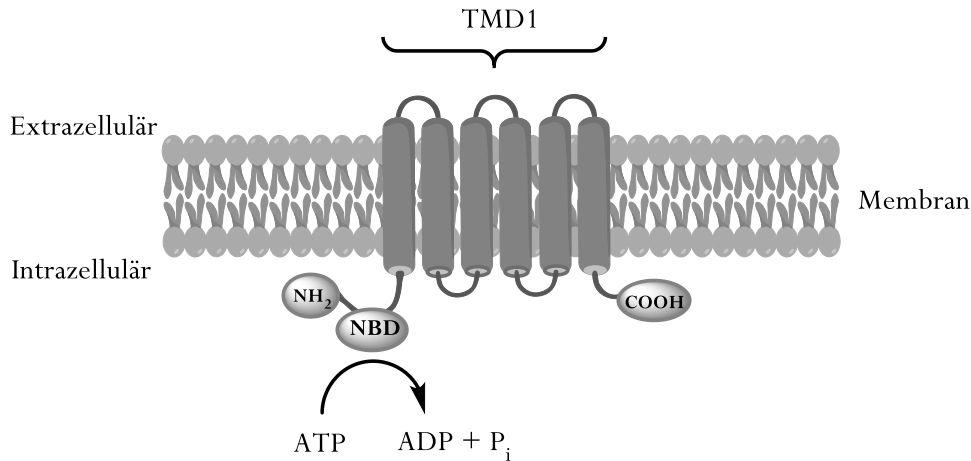


Abbildung 1.3: Topologiemodell von ABCG2.

Die physiologische Rolle von ABCG2 umfasst den Schutz bestimmter Gewebe gegenüber endogenen Toxinen und Xenobiotika, sowie die Regulation zellulärer Homöostase von essentiellen Verbindungen, wie z.B. Häm, Östrogen und Porphyrinen [98]. Eine weitere Ähnlichkeit zu ABCB1 liegt in der erhöhten Expression von ABCG2 in Leber, Niere, Blut-Hirn-Schranke, Plazenta und Dünndarm sowie weiteren Geweben [99,100]. Damit greift es in die Absorption, Distribution, Metabolismus und Elimination (ADME) von Wirkstoffen und Xenobiotika ein und übt so einen wichtigen Einfluss auf die Bereitstellung von Wirkstoffen und den Schutz von Geweben aus [26]. Eine einzigartige Eigenschaft von ABCG2 ist die erhöhte Expression in der Brustdrüse während der Stillzeit, was zur Sekretion und Konzentration von klinisch und toxikologisch relevanten Stoffen in der Muttermilch führt [101]. Weiterhin verwiesen Studien in einer Population hämatopoetischer Stammzellen (die sogenannte „Side Population“) aus dem Knochenmark und auch anderen Organen auf eine erhöhte Expression von ABCG2, was vermutlich ebenfalls eine schützende Funktion übernimmt [102,103].

### 1.2.3.2 Substrate von ABCG2

Analog zu ABCB1 und ABCC1 transportiert auch ABCG2 ein ausgedehntes Spektrum an strukturell unterschiedlichen Substraten. Die Bandbreite erstreckt sich von Zytostatika, wie z.B. Methotrexat, Irinotecan und dessen aktivem Metaboliten SN-38, Mitoxantron, Topotecan und

Tyrosinkinase-Inhibitoren (Imatinib), hin zu anderen Arzneistoffen, wie Prazosin, Statinen und Cimetidin, sowie nicht therapeutischen Verbindungen, wie in Nahrungsmitteln vorkommende Flavonoide, Porphyrinen (Farbstoffe) und Estron-3-sulfat (E1S). Eine ausführlichere Zusammenstellung von Substraten ist in Tabelle 1.2 gegeben. Beachtenswert ist insbesondere die beträchtliche Überlappung des Substratspektrums bezüglich der anderen beiden ABC Transporter. Neben den meist hydrophoben Verbindungen vermag ABCG2 ebenfalls hydrophile konjugierte organische Anionen mit hoher Affinität zu transportieren.

Tabelle 1.2: Auswahl an ABCG2 Substraten.

| Substanz-/Arzneistoffklassen und Vertreter   |  |
|--|--|
| <b>Zytostatika</b>   |  |
| <u>Anthrachinone:</u> Mitoxantron* [104,105],<br>Bisantren [106]                                     | <u>Camptothecine:</u> Topotecan* [106], Irinotecan* [69,104], SN-38* [113], 9-Aminocamptothecin [114]                                    |
| <u>Antimetabolit:</u> Methotrexat* [107,108]   | <u>Epipodophyllotoxine:</u> Etoposid <sup>1/*</sup> [104,115], Teniposid* [115]  |
| <u>Anthrazykline:</u> Doxorubicin <sup>1/*</sup> [106,109],<br>Daunorubicin <sup>1/*</sup> [106,110] |  |
| <u>Andere:</u> Flavopiridol* [111,112]   |  |
| <b>Diverse Klassen</b>   |  |
| <u>Antibiotika:</u> Ciprofloxacin [116],<br>Erythromycin* [117]                                      | <u>Glukuronid- und Sulfatkonjugate:</u> Estron-3-sulfat* [122], 17 $\beta$ -Estradiolsulfat* [107,122], Benzo[a]pyren-3-glukuronid [123] |
| <u>Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI):</u> Lamivudin [118],<br>Zidovudin [118]  | <u>Fluoreszenzfarbstoffe:</u> Hoechst 33342* [124], BODIPY-prazosin [106], Rhodamin 123 <sup>1/*</sup> [106]                             |
| <u>Andere:</u> Cimetidin* [119], Folsäure [120],<br>Pantoprazol [121], Prazosin [106]                | <u>Porhyrine (Farbstoffe):</u> Pheophorbid A [125], Häm [126], Phytoporphyrin [127], Pyropheophorbid A Methylester [128]                 |

\*Überlappendes Substratspektrum mit ABCB1 und/oder ABCC1

<sup>1</sup>Transport nur durch die ABCG2 Mutanten R482T oder R482G

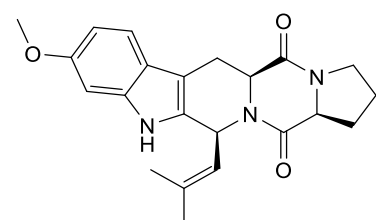
Das erweiterte Spektrum der Substrate wird maßgeblich durch zwei Punktmutationen in Position 482 der Aminosäuresequenz von ABCG2 beeinflusst [129,130]. Begründet in dem Austausch der Aminosäure Arginin gegen Threonin (R482T) oder Glycin (R482G) können auf der einen Seite zusätzlich Daunorubicin, Doxorubicin, Etoposid und Rhodamin 123 transportiert werden [105]. Auf der anderen Seite führt die Mutation zum Verlust der Transportfähigkeit des Folsäureanalogon Methotrexat (Efflux ausschließlich durch den ABCG2 Wildtyp/R482 [108]) [107,131]. Der Nachweis dieses Phänomens erfolgte bis dato lediglich in selektierten Zelllinien.

### 1.2.3.3 Inhibitoren von ABCG2

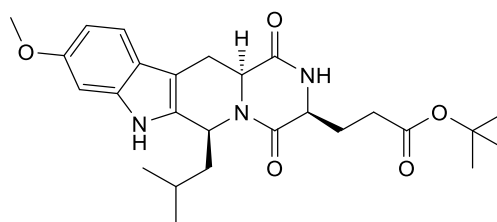
Begründet in der Entdeckung, dass ABCG2 in der Entwicklung von MDR in diversen Krebszelllinien involviert ist, stieg auch das Interesse, geeignete Inhibitoren zu finden. Eine Zusammenstellung der wichtigsten Strukturen bekannter ABCG2 Inhibitoren findet sich in Abbildung 1.4.

Die Entdeckung des ersten ABCG2 Inhibitors erfolgte unbekannterweise noch vor der Entdeckung von ABCG2 selbst. Fumitremorgin C (FTC), isoliert aus dem Pilz *Aspergillus fumigatus*, zeigte eine Sensitivierung der Resistenz in der Mitoxantron selektierten S1-M1-3.2 Kolon-Krebszelllinie [104]. Später stellte sich FTC als spezifischer ABCG2 Inhibitor im mikromolaren Konzentrationsbereich heraus [132], scheiterte jedoch in der klinischen Entwicklung aufgrund vorhandener Neurotoxizität. Allen et al. [133] entwickelten eine Reihe tetrazyklischer Analoga von FTC, wobei sich Ko143 als das potenteste Derivat hervortat und *in vitro* sowie *in vivo* nur sehr geringe Toxizität aufwies. Innerhalb der 2. Generation von ABCB1 Inhibitoren zeigten unter anderem das Acridoncarboxamid Elacridar [69,134] und dessen strukturell verwandtes Derivat Tariquidar [125] potentielle inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2. Weiterhin wurden auch einige Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs) auf ihre Interaktion mit ABCG2 untersucht [135]. So zeigte das Derivat CI1033 eine Aufhebung der ABCG2 induzierten MDR gegenüber Topotecan und SN-38 [136]. Ebenfalls konnte eine Inhibierung des Transportproteins durch Gefitinib [137] und Imatinib [138,139] erzielt werden. Bekanntermaßen kann ABCG2 die drei erwähnten TKIs direkt transportieren oder einen gewissen Resistenzgrad gegenüber diesen entwickeln, was eine kompetitive Inhibition von ABCG2 nahelegt [140,141]. Die Familie der Flavonoide stellt eine weitere interessante Gruppe der ABCG2 Inhibitoren dar. Beispielsweise zeigten Chrysin und Biochanin A eine effektive Hemmung des Transportproteins im mikromolaren Konzentrationsbereich [142]. Zusätzlich vermochten z.B. Genestein, Naringenin, Kampferol und glykolisierte Flavonoide die Resistenz von Mitoxantron und SN-38 gegenüber ABCG2 überexprimierenden K562 Zellen aufzuheben [143]. Anders als für FTC, Ko143 und den TKIs wird für Flavonoide ein

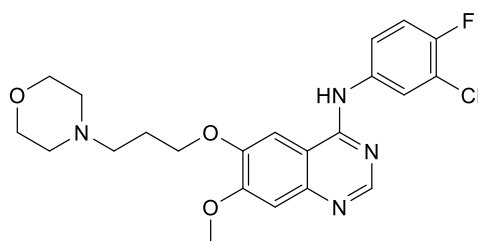
gesonderter Weg der Inhibition von ABCG2 angenommen, die Interaktion mit der NBD [144]. Insbesondere die inhibitorische Aktivität, die geringfügige Toxizität und der Bezug zu natürlich vorkommenden Derivaten macht diese Stoffklasse zu einer interessanten Zielstruktur innerhalb der Medizinischen Chemie.



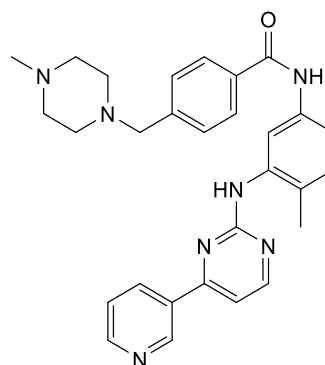
Fumitremorgin C (FTC)



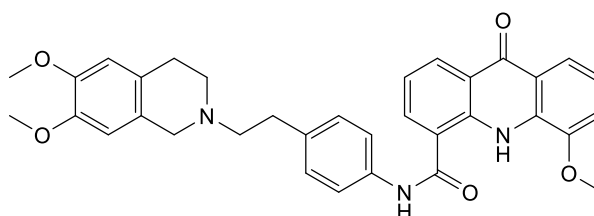
Ko143



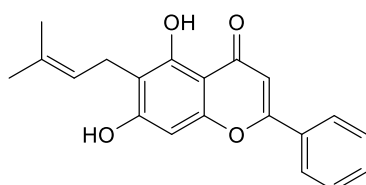
Gefitinib



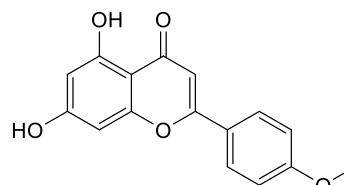
Imatinib



Elacridar (GF120918)



6-Prenylchrysin



Biochanin A

Abbildung 1.4: Strukturen ausgewählter ABCG2 Inhibitoren.

## 1.3 Chalkone: Ein vielseitige Wirkstoffklasse

Die 1,3-Diphenyl-2-propen-1-one (Abbildung 1.5), besser bekannt als Chalkone zählen zu der Gruppe der Flavonoide und sind als sekundäre Pflanzenstoffe reichlich innerhalb der Pflanzenwelt vertreten. Sie bilden die Vorstufe innerhalb der Biosynthese der Flavonoide und Isoflavonoide. Durch einen geöffneten Ring gekennzeichnet, verbindet ihre  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Carbonylpartialstruktur zwei aromatische Ringe. Je nach Konfiguration der Doppelbindung können die Chalkone als zwei Isomere vorliegen, *E* und *Z*. Außerdem sind sie bei vorhandener Hydroxygruppe in Position 2 isomer zu den Flavanonen und können in diese pH-abhängig umgewandelt werden. Weiterhin zählen sie zu den Intermediaten in der Synthese zahlreicher biologisch relevanter Stoffklassen, wie den Pyrazolen, Oxazolen, Flavonen und Pyrimidinen. Eine typische und leicht zugängliche Methode der synthetischen Herstellung stellt die Claisen-Schmidt Kondensation aus Aldehyd und Keton unter basischen Reaktionsbedingungen dar [145,146]. Neben den natürlich vorkommenden Chalkonen entstanden auf jene Weise zahlreiche synthetisch modifizierte Derivate und damit einhergehend ein umfangreiches pharmakologisches Wirkspektrum. Chalkone wirken unter anderem antimikrobiell [147,148], antiinflammatorisch [149,150], antifungal [151,152], antihyperglykämisch [153], antioxidativ und antitumoral [154–158].

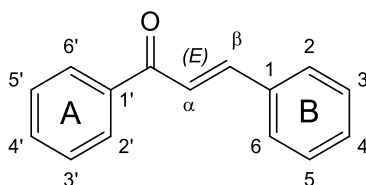
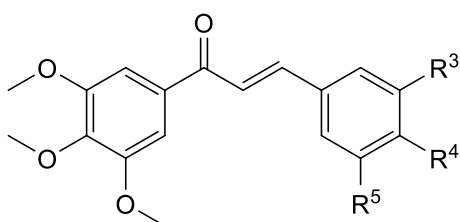


Abbildung 1.5: Grundstruktur der (*E*)-Chalkone.

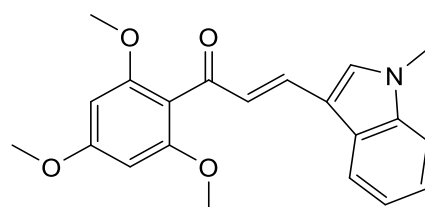
Im Jahr 1994 zeigten Scambia *et al.* [159], dass das natürlich vorkommende Flavonoid Quercetin die wachstumshemmende Wirkung und damit die Sensitivität der multiresistenten MCF-7 humanen Brustkrebs-Zelllinie gegenüber Adriamycin (ADR) durch Inhibition der ATP-Bindestelle von ABCB1 wiederherzustellen vermag [160]. Seither wurden zahlreiche weitere Derivate aus der Familie der Flavonoide als potentielle ABCB1 Antagonisten untersucht. Die ABCB1 Flavonoid-Bindestelle ist zytosolisch und überlappt teilweise die ATP-Bindestelle und die Bindungsaffinität ist stark abhängig von Klasse und Substituenten der Flavonoide [161]. Das Interesse an Flavonoiden als ABCB1 Inhibitoren führte zur Entwicklung zahlreicher strukturell unterschiedlicher Derivate, wie auch den Chalkonen als biosynthetische Vorstufe der Flavonoide.



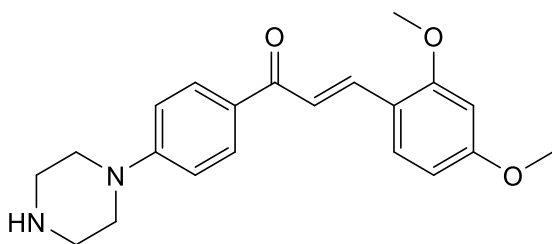
Im Jahr 1998 synthetisierten Bois et al. [162] erstmals eine Serie von halogenierten Chalkonen mit hoher Bindungsaffinität zu ABCB1 und damit der Fähigkeit die Multidrug Resistenz zu modulieren. Studien von Ivanova et al. [163] zeigten im Jahr 2008 eine 100-fach höhere Akkumulation des Wirkstoffes in Lymphomzellen durch die Inhibition von ABCB1, wobei die aktivste Verbindung mit einem Chlorrest am Ring B des Chalkons substituiert war und die  $IC_{50}$ -Konzentration im submikromolaren Bereich lag. Weiterhin synthetisierten Liu et al. [164] eine Serie von Chalkonen mit basischen Funktionalitäten am Ring A, welche gute ABCB1 Inhibition zeigten. Gleichzeitig stellten sich jene Derivate als ineffektiv in der Modulation des ABCG2 induzierten Mitoxantronefflux heraus. Lediglich eine Verbindung, welche keine basischen Funktionalitäten am Ring A aufwies, zeigte eine hohe inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2. Diese Ergebnisse standen im Einklang mit den Daten von Han et al. [165], welche eine Reihe von nicht basischen Chalkonen mit Dimethoxy- oder Dihydroxysubstitution am Ring A untersuchten. Jene Verbindungen steigerten die Aufnahme von Mitoxantron und dessen Zytotoxizität um das 2-5-fache und inhibierten die ATPase von ABCG2. Des Weiteren zeigte die Verbindung JAI-51 von Boumendjel et al. [166], strukturell ähnlich zu denen von Liu et al. ebenfalls eine Wiederherstellung der Chemosensitivität sowohl gegenüber Daunorubicin als auch Mitoxantron in resistenten Zelllinien. Dies verwies auf eine duale Inhibition der Chalkone gegenüber ABCB1 und ABCG2. In Abhängigkeit vom Substitutionsmuster der Chalkone ist nicht nur eine selektive, sondern auch duale Inhibition von ABCB1 und ABCG2 möglich. In den letzten Jahren sind weitere zahlreiche neue Variationen der Chalkone synthetisiert und auf ihre Interaktion gegenüber den ABC Transportern ABCB1 und ABCG2 untersucht worden [167–169]. Dennoch besteht weiterhin ein erhöhter Bedarf an zukünftigen Studien zur Entwicklung potentieller Inhibitoren, um die MDR zu überwinden und somit die Effektivität von Chemotherapie zu steigern sowie eingehendere Untersuchungen der Struktur-Wirkungs-Beziehungen.



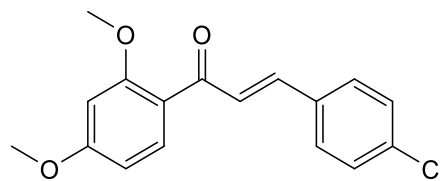
ABCB1 Inhibitor (Ivanova et al. [163])



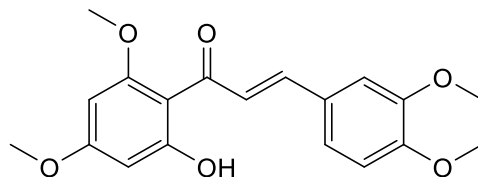
ABCB1/ABCG2 Inhibitor *in vitro* und *in vivo*  
(Boumendjel et al. [166])



ABCB1 / ABCG2 Inhibitor (Liu et al. [164])  
Basische Funktionalität



ABCG2 Inhibitor (Liu et al. [164])  
Nicht basische Funktionalität



ABCG2 Inhibitor (Juvale et al. [167])

Abbildung 1.6: Strukturen ausgewählter ABCB1 und ABCG2 Inhibitoren.

## 1.4 Zellbiologische Untersuchungen

Im Zuge der Etablierung neuartiger Klassen von Inhibitoren steht neben dem Design und der Synthese insbesondere die Untersuchung des Grades an Interaktion mit dem zu beeinflussenden therapeutischen Target im Fokus. Zur Charakterisierung des Ausmaßes an Hemmwirkung gegenüber ABC Transportern *in vitro* werden fluoreszenzbasierte zellbiologische Assays herangezogen. Weiterhin spielt die Erfassung der intrinsischen Zytotoxizität gegenüber den verwendeten Zelllinien, sowie die Bestimmung der Fähigkeit die Multidrug Resistenz aufzuheben, eine entscheidende Rolle. Im Folgenden sollen zum näheren Verständnis die Grundprinzipien der durchgeführten zellbasierten Assays erläutert werden.

### 1.4.1 Pheophorbid A Assay

Pheophorbid A ist ein fluoreszierender Farbstoff mit Zugehörigkeit zur chemischen Gruppe der Porphyrine und entsteht als Produkt im Abbauprozess von Chlorophyll. Basierend auf seinen lichtaktivierbaren Eigenschaften wird es unter anderem als Photosensibilisator in der Photodynamischen Therapie (PDT) von Tumoren eingesetzt [170–172]. Identifiziert als spezifisches Substrat von ABCG2 eignet es sich hervorragend zur Untersuchung der Hemmwirkung gegenüber dem Transportprotein. Sein Exzitationsmaximum liegt im Bereich von 395 nm und das Emissionsmaximum bei 670 nm [125,173]. Pheophorbid A diffundiert durch die Zellmembran und akkumuliert anschließend innerhalb der Zelle. Mit der Zeit stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Einstrom, passivem Ausstrom und aktivem Abtransport ein. Bei vorliegender Überexpression des Transportproteins findet ein erhöhter Efflux des Farbstoffes statt, welcher anhand der abfallenden Fluoreszenz detektiert werden kann. Im Gegenzug zeigt sich in der Kombination mit steigenden Konzentrationen eines ABCG2 Inhibitors ein Anstieg der Fluoreszenz durch Erhöhung des Gehalts an Pheophorbid A innerhalb der Zelle. Daraus lässt sich schließlich das Ausmaß der Hemmwirkung ableiten (Abbildung 1.7).

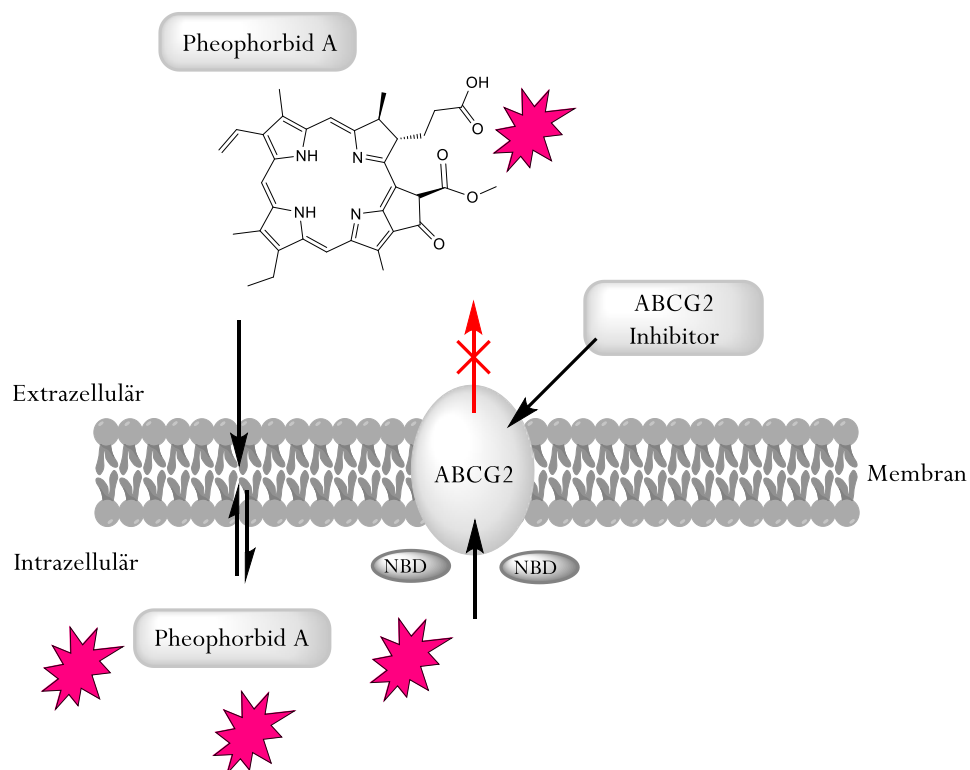


Abbildung 1.7: Prinzip des Pheophorbid A Assays.

Die Vermessung des Pheophorbid A Assays erfolgte an einem Becton-Dickinson FACSCalibur (FACS: Fluorescence Activated Cell Sorting) mittels Durchflusszytometrie. Dabei werden die Zellen einzeln über einen Flüssigkeitsstrom in den Messbereich einer Lichtquelle (Laserstrahl) herangeführt und anschließend sowohl Fluoreszenz als auch Streulichtsignale analysiert. Durch den Einsatz verschiedenfarbiger Filter kann sowohl ein hoher Messbereich als auch eine breite Palette an zu verwendenden Fluoreszenzfarbstoffen abgedeckt werden. Vereinfacht gliedert sich der Aufbau des Systems in 3 wesentliche Bestandteile (Abbildung 1.8):

1. Das Flüssigkeitssystem zur Führung der Zellsuspension zum optischen System,
2. Das optische System bestehend aus einem Argonlaser (Exzitation 488 nm) als Anregungseinheit und die Detektionseinheit, wobei hier die Fluoreszenzsignale durch die unterschiedlichen Filter auf verschiedene Detektoren aufgeteilt werden,
3. Das signalverarbeitende System.

Das Herzstück bildet die Detektionseinheit, welche das Streulicht und die Fluoreszenz liefert. Dabei ist das Vorwärtsstreulicht (FSC= Forward angle Scatter) ein Maß für die Beugung von Licht im flachen Winkel und hängt vom Volumen der Zelle ab. Das Seitwärtsstreulicht (SSC= Side Scatter) ist ein Maß für die Brechung von Licht im rechten Winkel und wird durch die Granularität der Zelle, Größe und Struktur des Zellkerns sowie der Menge an Vesikeln in der Zelle bestimmt. Dies lässt Aussagen über die Beschaffenheit der verwendeten Zellen sowie die Beurteilung über die Eignung des Assays zu. Weiterhin kann die Fluoreszenz in unterschiedlichen Kanälen detektiert werden, wobei in diesem Fall drei zur Verfügung standen: FL1-3 (verschiedene Wellenlängen). Im Falle des Pheophorbid A Assays kam Kanal 3 (FL3) mit einem Filter für 670 nm und längeren Wellenlängen zum Einsatz.

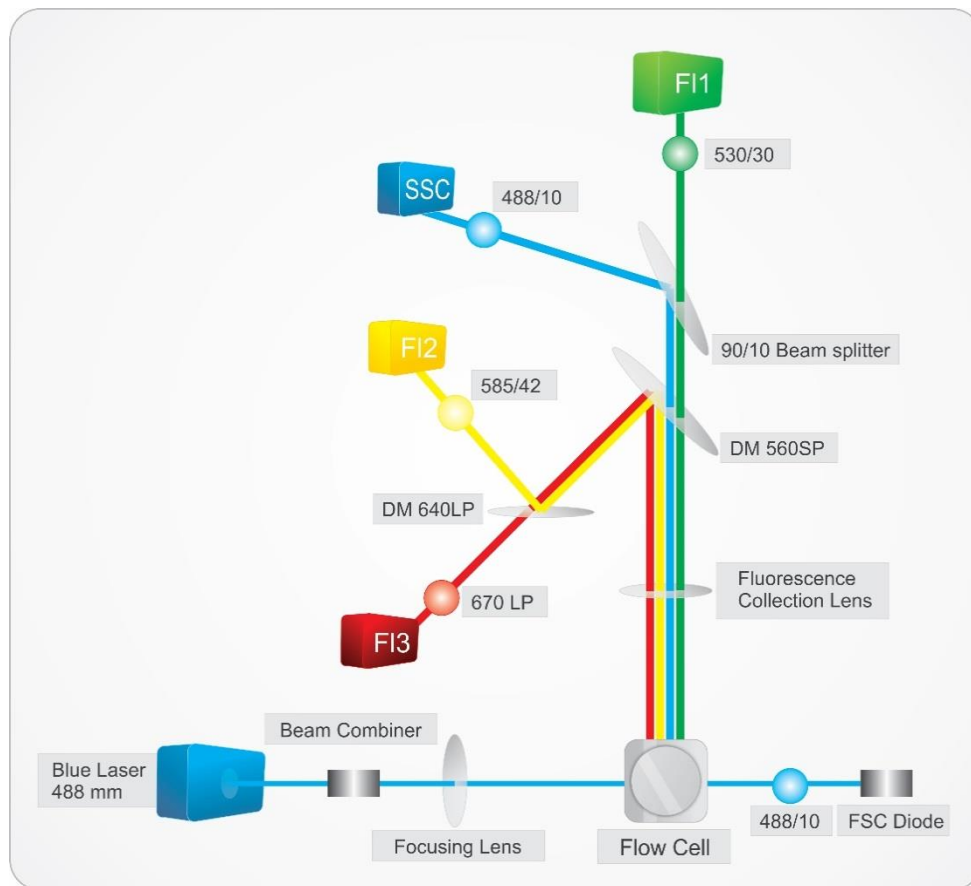


Abbildung 1.8: Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers [174].

### 1.4.2 Hoechst 33342 Assay

Das Bisbenzimidazol-Derivat Hoechst 33342 reiht sich in die Gruppe der Fluoreszenzfarbstoffe ein. Die Besonderheit liegt unter anderem in der Fähigkeit sich in die DNA einzulagern, insbesondere in Adenin-Thymin-reichen Sequenzen, was eine Markierung bzw. Anfärbung von DNA ermöglicht [175–177]. Daraus resultiert eine potentielle karzinogene und mutagene Wirkung. Der Farbstoff wird mittels UV Licht bei einer Wellenlänge von 340 nm (ungebunden) bzw. 355 nm (gebunden) angeregt und emittiert das Licht blau bei 510-540 nm (ungebunden) und gebunden an Nukleotide bei 450 nm. Hoechst 33342 wurde als ein Substrat der Transportproteine ABCG2 und ABCB1 identifiziert und eignet sich zur Untersuchung der Interaktionen mit Inhibitoren. Durch seine hohe Lipophilie kann es die Zellmembran leicht überwinden und sich in der Zelle anreichern. Eine gesteigerte Effluxfunktion des Transporters in ABCG2/ABCB1 überexprimierenden Zellen kann durch das Zuführen eines Inhibitors überwunden werden.

Dies resultiert in einem konzentrationsabhängigen Anstieg von Hoechst 33342 und damit der Fluoreszenzintensität innerhalb der Zelle und ist somit ein Indikator für die Aktivität des Inhibitors (Abbildung 1.9).

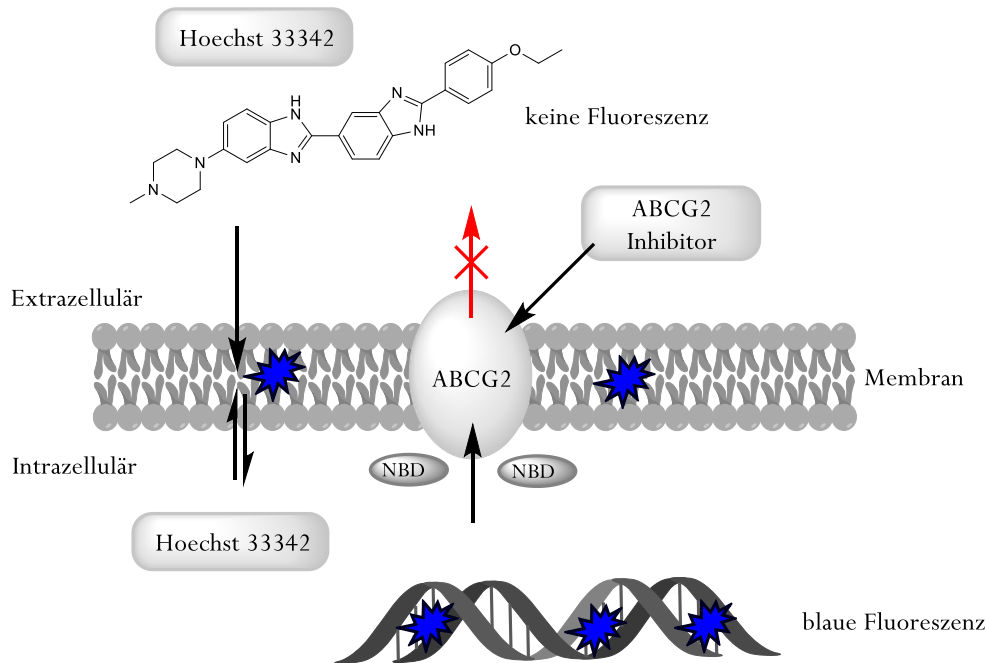


Abbildung 1.9: Prinzip des Hoechst 33342 Assays.

### 1.4.3 Calcein AM Assay

Das zellmembrangängige und nicht fluoreszierende Calcein AM stellt die veresterte Vorstufe des Fluoreszenzfarbstoffes Calcein dar und wird häufig zur Untersuchung der Zelltoxizität verwendet. Aufgrund seiner hohen Lipophilie diffundiert es leicht durch die Zellmembran. Innerhalb der Zelle wird es durch unspezifische Esterasen hydrolysiert, wobei das stark grün fluoreszierende Calcein Anion mit einem Exzitationsmaximum von 494 nm und einem Emissionsmaximum von 517 nm entsteht. Nach Spaltung der Acetoxymethylester verursacht der nun stark hydrophile Charakter, dass Calcein nur auf aktivem Transport aus der Zelle ausgeschleust werden kann. Calcein AM ist sowohl ein Substrat von ABCB1 als auch ABCC1 und eignet sich daher zur Untersuchung der Affinität zu diesen Transportproteinen [178,179]. Das Calcein-Anion hingegen ist lediglich ein Substrat von ABCC1 [180]. Innerhalb ABCB1 bzw. ABCC1 überexprimierenden Zelllinien würde durch den aktiven Transport von Calcein (sowie Calcein AM) die Fluoreszenz innerhalb der Zelle abnehmen. Durch Zusatz eines Inhibitors steigt konzentrationsabhängig die Calcein Fluoreszenz in der Zelle an und lässt Rückschlüsse auf die inhibitorische Aktivität der zu



### 1.4.4 MTT Assay

Der gelbe wasserlösliche Farbstoff MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) dient als Indikator zur Bestimmung der Zellvitalität *in vitro* und wurde erstmals im Jahr 1983 durch Mosmann et. al [182] beschrieben. Das Prinzip beruht auf der Reduktion des membrangängigen Tetrazoliumsalzes zu blau-violetten und wasserunlöslichen Formazan-Kristallen ((*E,Z*)-5-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan). Jener Prozess kann nur in proliferierenden Zellen durch die vorhandenen mitochondrialen Reduktasen erfolgen (Abbildung 1.11). Das nun nicht länger membrangängige Formazan akkumuliert innerhalb der Zelle. Die Menge an umgesetzten MTT verhält sich proportional zum Vorhandensein lebender Zellen. In einem kolorimetrischen Messverfahren wird die Farbintensität des gebildeten Formazans durch Detektion der Absorption bei 544 nm ermittelt.

Der MTT Assay wurde zur Evaluierung folgender biologischer Daten herangezogen:

1. Bestimmung der intrinsischen Zytotoxizität über einen Inkubationszeitraum von 72 Stunden in den verwendeten Zelllinien.
2. Bestimmung des Aufhebungsgrades der Multidrug Resistenz gegenüber dem Zytostatikum SN-38 durch ausgewählte Verbindungen. Dazu wurde die Verschiebung der Dosis-Effekt-Kurve jener zytotoxischen Substanz in An- bzw. Abwesenheit unterschiedlicher Inhibitorkonzentrationen betrachtet.

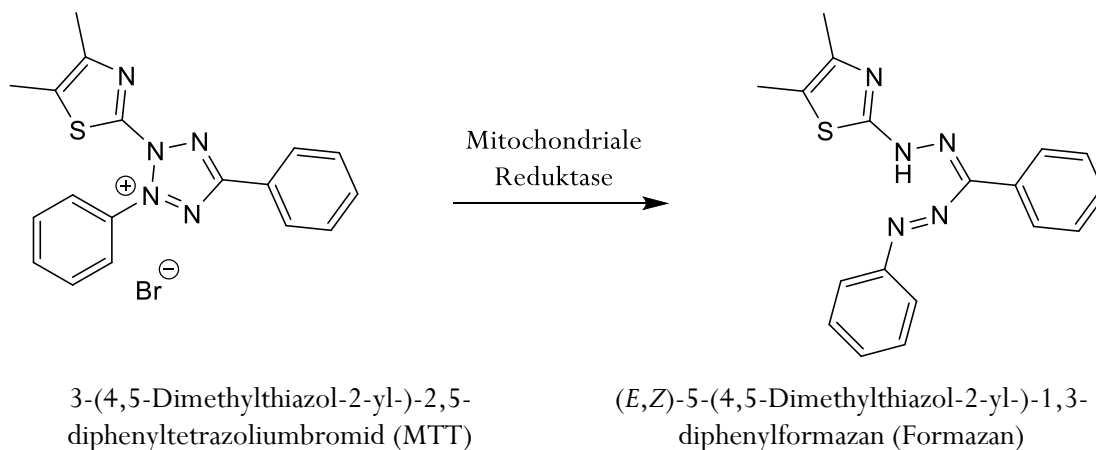


Abbildung 1.11: Schematische Darstellung der Reduktion von MTT zu Formazan.



## 2 Ziele der Arbeit

Chemotherapie zählt neben der Bestrahlung und operativen Eingriffen zum Standard bei der Behandlung von Tumorerkrankungen. Doch häufig führt die Entwicklung oder das Vorhandensein von Multidrug Resistenz (MDR) der Krebszellen gegen die eingesetzten Arzneistoffe (Zytostatika) zum Misserfolg dieser Therapie. Einer der entscheidenden Mechanismen für die Entstehung von MDR ist die Überexpression von ABC Transportern. Zu den Wichtigsten zählen in diesem Kontext ABCB1, ABCC1 und ABCG2 [2]. Die Entwicklung spezifischer Inhibitoren der Effluxfunktion dieser Transportproteine stellt eine Möglichkeit der Überwindung von MDR dar. Neben synthetisch hergestellten Verbindungen spielen auch natürlich vorkommende Derivate eine große Rolle und ermöglichen ein breites Spektrum an struktureller Vielfalt.

Im Fokus dieser Arbeit standen insbesondere die Entwicklung und biologische Evaluierung neuartiger ABCG2 Inhibitoren, welche auf dem Grundgerüst der Chalkone basieren und eine Verknüpfung aus Natur und Synthetik darstellen. Diese Stoffklasse ist Basis zahlreicher Variationsmöglichkeiten und wurde bereits hinsichtlich ihres Effektes gegenüber Multidrug-Resistenz studiert. Durch die Weiterentwicklung jener Grundstruktur sollten neuartige potente und selektive Inhibitoren von ABCG2 identifiziert und Einblicke in die Interaktion mit dem Transporter gewonnen werden.

Zu diesem Zweck wurden folgende Ansätze verfolgt:

1. Design und Synthese einer umfangreichen Substanzbibliothek bestehend aus drei unterschiedlichen Stoffklassen unter Einbindung stickstoffhaltiger Partialstrukturen als essentiellen Baustein.
  - Aufgabe der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylkomponente im Zuge der Derivatisierung zum Pyrazol und damit die Entstehung einer heterozyklischen Komponente eingebettet im Grundgerüst.
  - Verknüpfung der Chalkongrundstruktur mit einem zusätzlichen aromatischen Rest über die Ausbildung eines Amidlinkers und somit die Schaffung einer Molekülerweiterung am Ring A.

- Verknüpfung zweier bekannter und potenter Modulatorklassen durch Heterodimerisierung: die Verlinkung von Chinazolin- und Chalkongrundstruktur.
- 2. Biologische Evaluierung der synthetisierten Verbindungen auf ihr Verhalten gegenüber ABCG2 und Analyse der daraus resultierenden Struktur-Wirkungs-Beziehungen.
- 3. Überprüfung des Grades an Selektivität durch Bestimmung der Affinität zu ABCB1 und ABCC1.
- 4. Bestimmung der intrinsischen Zytotoxizität und Sensitivierung der gewählten Krebszellen gegenüber Zytostatika und damit der Aufhebung der MDR.

Das erste Teilprojekt dieser Arbeit umfasste die Entwicklung von Pyrazolen als ABCG2 Inhibitoren. Begründet in ihrem vielseitigen Wirkspektrum stellen Pyrazole seit Jahrzehnten einen essentiellen Bestandteil der Medizinischen Chemie dar [183]. In Bezug auf die Inhibition von ABC Transportern sind bisher keine Daten bekannt. Die Derivatisierung unterschiedlich substituierter Benzochalkone zu Pyrazolen, unter Ausbildung eines Heterozyklus eingebettet in die Struktur, sollte Aufschluss über die inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 geben sowie die Auswirkung der Aufhebung der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylstruktur aufzeigen.

Die Grundstruktur der Chalkone deckt ein breites Spektrum an biologischer Aktivität ab, so z.B. die Inhibition von ABC Transportern. Dennoch ist bisher nur wenig über die strukturelle Abhängigkeit der Inhibition von ABC Transportern durch Chalkone bekannt. Einschlägige Studien verweisen unter anderem auf das Vorhandensein einer Mehrfachsubstitution von Methoxygruppen am Ring B des Chalkons und machen im gleichen Zuge Ring A als favorisiertes Ziel verschiedenster Substitutionsmuster aus [167,168]. In diesem Sinne sollte im zweiten Teilprojekt durch die Verknüpfung des Chalkons mit einem zusätzlichen aromatischen Rest über einen Amidlinker eine Reihe neuartiger Derivate entstehen, welche einen Einblick in die Struktur-Wirkungs-Beziehung und damit in die Inhibition von ABCG2 erlauben.

Sowohl die Stoffklasse der Chinazoline als auch die der Chalkone bewiesen in früheren Studien ihr Potential, ABCG2 zu hemmen und damit die Resistenz von Krebszellen gegenüber Zytostatika zu überwinden [167,184]. Durch die Zusammenführung beider Strukturelemente sollte im Zuge des dritten Teilprojektes die Effektivität einer Heterodimerisierung untersucht und zum anderen eine Aktivitätssteigerung des Chalkons herbeigeführt werden. Anhand der Struktur-Wirkungs-Beziehungen sollten die optimalen Strukturmerkmale identifiziert werden

## 3 Projekt I: Pyrazole als ABCG2 Inhibitoren

### 3.1 Pyrazole: Ein Überblick

Im Jahre 1883 wurde der Begriff der Pyrazole erstmals durch dessen Entdecker Ludwig Knorr geprägt, welcher unter anderem mit Hydrazinen und verschiedenen Reaktionspartnern, wie Aldehyden und Ketonen experimentierte [185]. Pyrazole und Pyrazoline zählen zu den heterozyklischen Verbindungen, bestehend aus einem fünfgliedrigen Ring mit drei Kohlenstoffatomen und zwei benachbarten Stickstoffatomen. Obwohl als Alkaloide klassifiziert, sind sie in der Natur eher selten anzutreffen. Erstmals 1959 konnte ein natürliches Pyrazol, das 1-Pyrazolyl-alanin, aus dem Samen der Wassermelone *Citrullus vulgaris* isoliert werden [186]. Über die Jahre hinweg wurden die Pyrazole zu einem wichtigen Bestandteil bei der Entwicklung pharmakologisch wirksamer Verbindungen [183,187,188]. Das Wirkspektrum umfasst unter Anderem analgetische [189–191], antimikrobielle [192], antidepressive [193,194] und antidiabetische [195–197] Eigenschaften. Daneben finden sie ebenso Anwendung in Industrie (Farbstoffe wie Tartrazin) und Agrochemie (Herbizide wie Azimsulfuron). In der folgenden Abbildung 3.1 sind zwei der bekanntesten Arzneistoffe dargestellt.

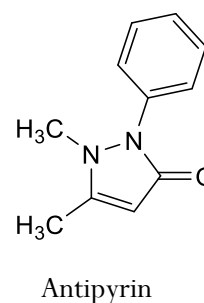
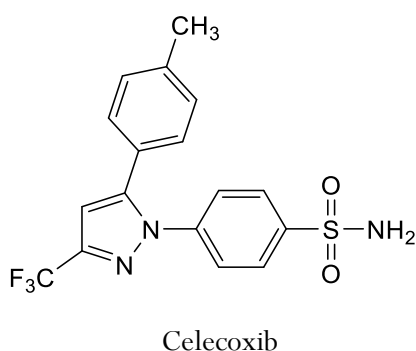


Abbildung 3.1: Bekannte Wirkstoffe mit Pyrazol-/Pyrazolon-Grundstruktur aus der Gruppe der Nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR).

Pyrazole sind synthetisch leicht zugänglich und viele Herstellungswege wurden seither entwickelt und optimiert. Eine der am häufigsten gewählten Route stellt die Zyklisierung von  $\beta$ -Diketonen mit Hydrazin dar. Diese verläuft über die Bildung des entsprechenden Hydrazons, welches anschließend durch Dehydratisierung zyklisiert. Eine Abwandlung davon geht von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylverbindungen aus, welche in dieser Arbeit zum Tragen kam. Die Vielfalt der pharmakologischen Wirksamkeiten, ebenso wie die Vielfalt an möglichen Synthesewegen, spiegelt das Potential dieser Heterozyklenklasse wieder.

In Bezug auf die Entwicklung und Untersuchung von Pyrazol-Derivaten als mögliche Inhibitoren des ABC Transporters ABCG2 gibt es bislang keine Daten. Des Weiteren verweisen Studien zur Stoffklasse der Chinazoline [184,198] oder den HM30181-Derivaten [199] als potente Inhibitoren von ABCG2, welche ebenfalls in diesem Arbeitskreis entwickelt und untersucht wurden, auf den Vorteil heterozyklischer Bausteine im Grundgerüst. Unter Berücksichtigung dieser beiden Faktoren lag das Ziel nahe, im Rahmen dieser Arbeit eine Reihe neuartiger Derivate des Pyrazols zu synthetisieren und auf ihre biologische Aktivität gegenüber ABC Transportern, insbesondere im Zusammenhang mit ABCG2, zu untersuchen.

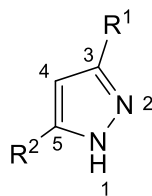


Abbildung 3.2: Grundstruktur der 1H-Pyrazole.

Basierend auf den pharmakologischen Daten zu Chalkonen, Benzochalkonen und Flavonen, in diesem Arbeitskreis von Kapil Juvele erhoben, erfolgte die Planung dieses Projektes [167,200]. Wie bereits beschrieben, sollten neue Klassen von ABCG2 Inhibitoren ausgehend von der Grundstruktur der Chalkone synthetisiert werden. Für die Entwicklung der 1H-Pyrazole (Abbildung 3.2) dienten die 3',4'- bzw. 5',6'-Benzochalkone als Ausgangsstoffe für die Derivatisierung.

## 3.2 Synthese und Testung der Pyrazoline

Pyrazoline sind die Dihydroverbindungen der Pyrazole. Je nach Stellung der Doppelbindung im Ring erfolgt die Einteilung in 1-, 2- oder 3-Pyrazoline. In Bezug auf ihre allgemeinen Eigenschaften sind sie stärker basisch, leichter substituierbar und oxidierbar als Pyrazole. Von therapeutischer Bedeutung sind überwiegend die 2-Pyrazoline (Abbildung 3.3), welche zu den am umfangreichsten untersuchten Verbindungen zählen. Die pharmakologischen Wirkungen entsprechen denen der Pyrazole [26,27].

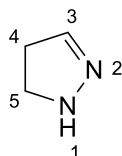


Abbildung 3.3: Grundstruktur der 2-Pyrazoline.

Pionierarbeit auf dem Gebiet der Synthese von Pyrazolinen leisteten Emil Fischer und Oskar Knoevenagel im 19. Jahrhundert [201]. Deren Umsetzung von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylverbindungen mit Phenylhydrazin in Eisessig wurde zur bekanntesten Methode um 2-Pyrazoline darzustellen.

Im Zusammenhang mit der Entwicklung der Pyrazole/Pyrazoline stellten sich zwei entscheidende Fragen.

1. In wie weit nimmt das nicht Vorhandensein des konjugierten Zustandes Einfluss auf die Aktivität?
2. Vermag an Stelle des Wasserstoffes am Pyrazolin-Stickstoff ein zusätzlicher Phenylring die inhibitorische Aktivität positiv zu beeinflussen?

Dazu erfolgten die Synthese von insgesamt vier Pyrazolin-Derivaten und die Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mittels des Pheophorbid A Assays.

### 3.2.1 Synthese der Pyrazoline

Die allgemeine Darstellung der Pyrazoline ist im folgenden Schema (Abbildung 3.4) graphisch aufgezeigt.

Im ersten Schritt der Synthese erfolgte die Darstellung des gewünschten Benzochalkons durch Kondensation von 2-Acetyl-1-naphthol / 1-Acetyl-2-naphthol mit 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (oder 3,4-Dichlorbenzaldehyd) in Methanol [167]. Die basenkatalysierte Claisen-Schmidt Reaktion erfolgte unter Zusatz von wasserfreiem Lithiumhydroxid im Ultraschallbad. Anschließend wurden die erhaltenen Benzochalkone mit Hydrazin bzw. Phenylhydrazin, unter Zusatz von Essigsäure in Ethanol weiter umgesetzt. Die Isolierung des Produktes gelang durch wässrige Aufarbeitung.

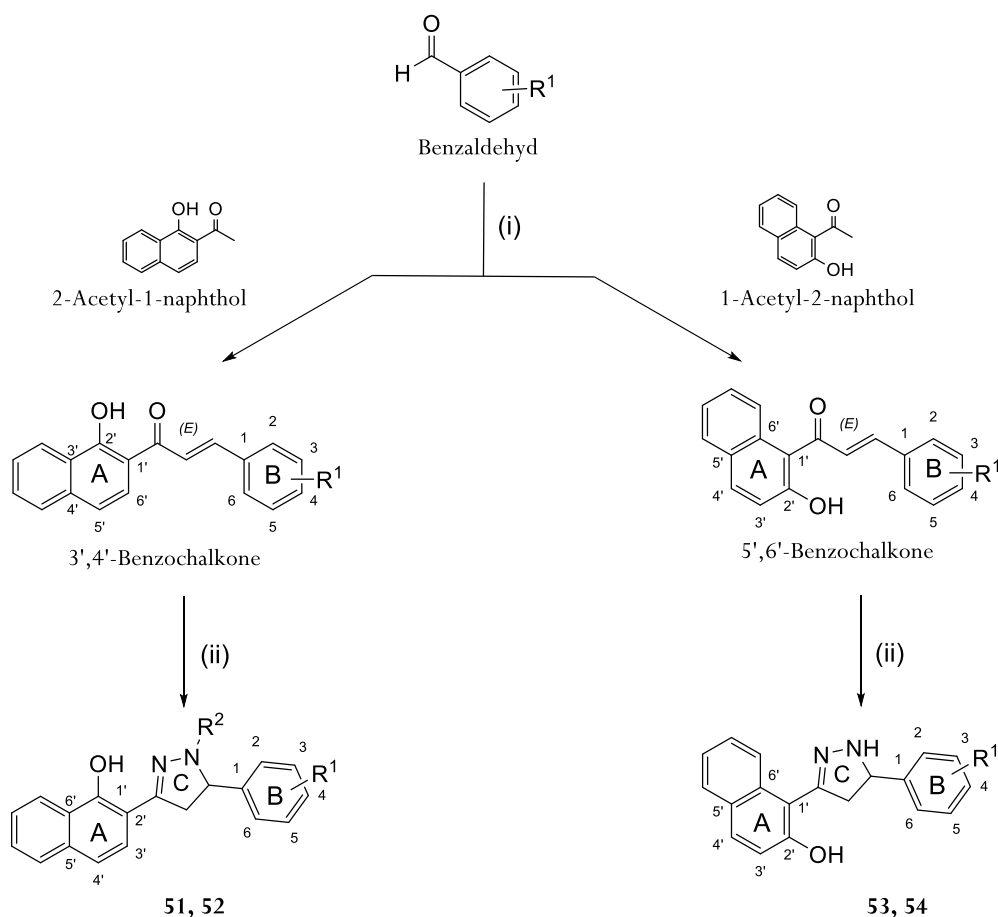


Abbildung 3.4: Syntheschema der Pyrazoline: (i) LiOH, MeOH, Ultraschallbad, 4-5 h; (ii) Hydrazin-Monohydrat oder Phenylhydrazin, CH<sub>3</sub>COOH, EtOH.

### 3.2.2 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

Die Untersuchung der synthetisierten Pyrazoline (**51–54**) auf ihr Potential ABCG2 zu hemmen erfolgte mit Hilfe des Pheophorbid A Assays. Funktionsweise und Durchführung des Assays wurden bereits in Kapitel 1.4.1 und 7.2.3.1 diskutiert. Die entsprechenden  $IC_{50}$ -Werte sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst.

Zwischen den beiden 2-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol-Derivaten **51** und **52** war ein eindeutiger Unterschied der Aktivitäten zu erkennen. Eine Substitution des Pyrazolinstickstoffes mit Phenyl verschlechterte die Aktivität um ein 8-faches. Als Konsequenz dessen erfolgte die Synthese der Pyrazole ausgehend vom Benzochalkon mit Hydrazin-Monohydrat und nicht mit Phenylhydrazin. Im Vergleich der Verbindungen **51** ( $IC_{50} = 2,44 \mu\text{mol/l}$ ) und **54** ( $IC_{50} = 0,860 \mu\text{mol/l}$ ), welche sich durch die Stellung des Naphthoylrestes unterscheiden, ließ sich eine 3-fach höhere inhibitorische Aktivität von Verbindung **54** erkennen.

Dies führte zu dem Schluss, dass die 1-(5-substituierten-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ole womöglich die aktivere Form darstellen, was im Zuge der Pyrazole näher betrachtet wurde.

*Tabelle 3.1: Inhibitorische Aktivität der Pyrazoline gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie.*

| Verbindung | R <sup>1</sup>       | R <sup>2</sup> | Pheophorbid A Assay<br>$IC_{50} \pm SD$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* |
|------------|----------------------|----------------|---|
| 51         | 3,4-OCH <sub>3</sub> | H              | $2,44 \pm 0,18$   |
| 52         | 3,4-OCH <sub>3</sub> | Phenyl         | $16,7 \pm 0,8$  |
| 53         | 3,4-Cl               | H              | $14,4 \pm 2,4$  |
| 54         | 3,4-OCH <sub>3</sub> | H              | $0,860 \pm 0,071$   |

\* Die Daten wurden aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.

Rückblickend auf die Fragestellung zum Anfang dieses Kapitels zeigten diese Vorversuche, dass der Wasserstoff am Pyrazolstickstoff und die Position des Naphthoylrestes einen erheblichen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 besitzen. Dies sollte im späteren Vergleich zu den Pyrazolen näher diskutiert werden.

### 3.3 Synthese der Pyrazole

In den letzten Jahrzehnten wurde eine Vielzahl von Syntheserouten zur Darstellung der Pyrazole entwickelt. In dieser Arbeit wurden einige dieser möglichen Wege durchgeführt. Lediglich einer von vier Synthesewegen führte zur Isolierung der gewünschten Pyrazole. Die folgende Abbildung 3.5 gibt einen Überblick über die einzelnen Syntheseversuche ausgehend vom Chalkon.

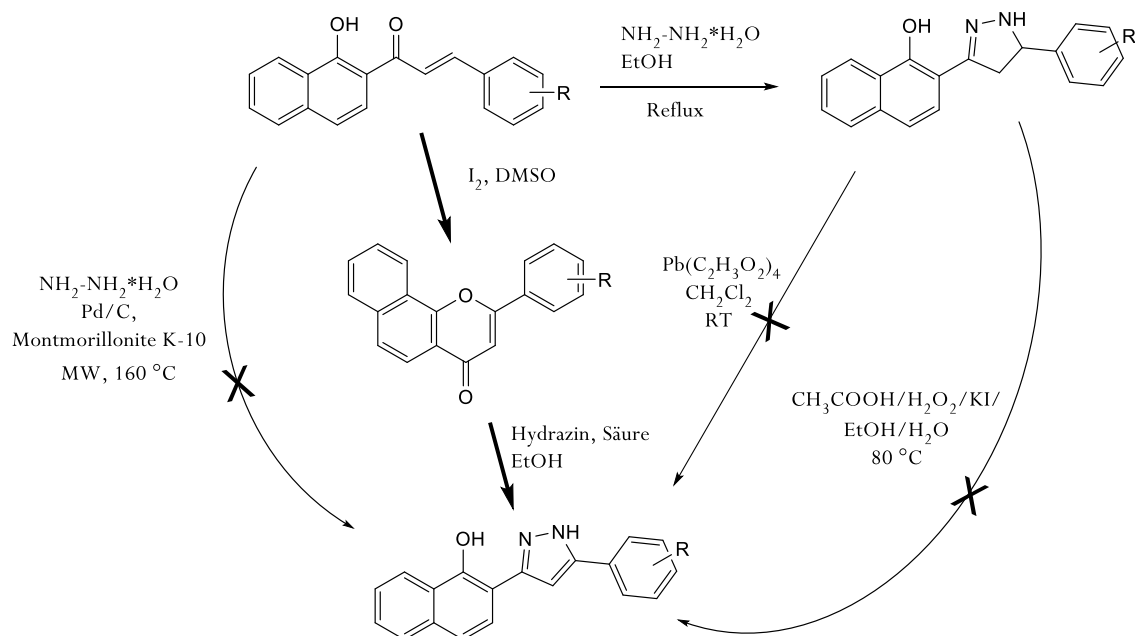


Abbildung 3.5: Schema einzelner Syntheseversuche zur Darstellung der Pyrazole.

#### Syntheseversuch 1 und 2:

Das synthetisierte Benzochalkon wurde mit Ethanol und einem Überschuss an Hydrazin-Monohydrat versetzt und anschließend refluxiert. Nach abgeschlossener Umsetzung der Edukte erfolgte die Fällung des Produktes durch Zugabe von Eiswasser. Durch anschließende Filtration des Niederschlags, und Waschen mit ausreichend Wasser konnte das Pyrazolin in guter Ausbeute isoliert werden. Im nächsten Schritt sollte das Edukt in den aromatischen Zustand überführt werden. Dies geschah auf zweierlei Wegen:



Weg A / Synthese nach Catarzi et al. [202]: Zu einer Lösung aus Bleitetraacetat in trockenem Dichlormethan wurde das zuvor synthetisierten Pyrazolin (äquiv.) hinzugetropft. Anschließend rührte die Mixtur bei Raumtemperatur. Durch die anschließende Zugabe von Wasser erfolgte die Hydrolyse des Bleitetraacetats zu Bleidioxid (und Essigsäure), welches abfiltriert wurde. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde das Lösungsmittel unter Vakuum eingeeengt. Im nächsten Schritt wurde der Rückstand in einer Mischung aus konzentrierter HCl (0,15 ml) und Ethanol (20 ml) gelöst und unter Rückfluss erhitzt. Die beschriebene Synthese führte nicht zum gewünschten Produkt, da dieses nicht als Reinstoff isolierbar war bzw. die Umsetzung sehr schlecht verlief.

Weg B / Synthese nach Maleki et al. [203]: Die Aromatisierung des Pyrazolins sollte hierbei mittels eines  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AcOH}/\text{KI}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$  Systems erfolgen. Jedoch entstanden im Zuge dieser Umsetzung zu viele Nebenprodukte, wodurch es nicht möglich war, das gewünschte Produkt als Reinstoff zu isolieren.

### Syntheseversuch 3:

Hierbei sollte die Zwischenstufe des Pyrazolins übersprungen und das Benzochalkon direkt zum Pyrazol umgesetzt werden. Dazu erfolgte nach Landge et al. [204] die Lösung einer Mixtur aus Benzochalkon und einem Überschuss an Hydrazin in Dichlormethan und die Zugabe einer Kombination aus Palladium/Kohle und Montmorillonite K-10. Nach einer Rührzeit von 10 min wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingeeengt und die trockene Mixtur in der Mikrowelle (MW) bei 160 °C umgesetzt. Anschließend wurde das Gemisch in Dichlormethan aufgenommen, erneut für 10 min gerührt und der Katalysator abfiltriert. Das Montmorillonite K-10 aktiviert im ersten Schritt das Chalkon. Es handelt sich hierbei um einen sehr umweltfreundlichen Katalysator mit hoher Acidität, welcher recycelbar und nicht korrosiv ist. Die Abspaltung von Wasser und der Angriff des Hydrazins ist erleichtert und somit die Bildung des Pyrazolins begünstigt. Im letzten Schritt übernimmt das Palladium die Hauptrolle und dehydrogeniert das Intermediat zum aromatischen Endprodukt. Auch dieser Syntheseversuch führte nicht zur Isolierung des gewünschten Reinstoffes und wurde damit verworfen.

#### Syntheseversuch 4:

Als außerordentlich erfolgreich erwies sich der Syntheseweg über die Benzoflavone als Zwischenstufe. Zu Beginn der Synthese stand die Darstellung unterschiedlich substituierter 3',4'-Benzochalkone bzw. 5',6'-Benzochalkone nach Juvalé et al. [167]. Dazu erfolgte die Umsetzung von 2-Acetyl-1-naphthol oder 1-Acetyl-2-naphthol mit unterschiedlich substituierten Aldehyden in einer basenkatalysierten Claisen-Schmidt Kondensation. Durch den Einsatz eines Ultraschallbades verkürzte sich die Reaktionszeit von 24 Stunden Rühren auf 4-5 Stunden. Im Anschluss konnte das Produkt durch Zugabe von Eiswasser und Ansäuern mit verdünnter HCl ausgefällt werden. Dabei ergaben sich jedoch zweierlei Probleme. Zum einen führte beim Einsatz flüssiger Aldehyde die Fällung zu zähen Rückständen der Verbindungen. Dies konnte durch erneutes Lösen in Methanol, Zugabe von Eiswasser und der Behandlung im Ultraschallbad umgangen werden. Zum anderen war in einigen Fällen, die Zyklisierung zum Benzoflavanon zu beobachten. Allerdings spielte dies für den zweiten Schritt der Pyrazol-Synthese keine große Rolle. Letztlich ließ sich auch dieses Problem umgehen, indem nicht mit HCl angesäuert, sondern nach Filtration ausgiebig mit Wasser gespült wurde.

Der nächste Syntheseschritt beinhaltete die Zyklisierung der zuvor erhaltenen Benzochalkone mit einer katalytischen Menge an Iod in DMSO zum Benzoflavanon. Durch Unterstützung mit Mikrowellenstrahlung ließ sich die Reaktionszeit von bis zu 8 Stunden unter Rückfluss auf 30 Minuten reduzieren. Das entstandene Produkt wurde auf Eiswasser gegeben, der entstandene Niederschlag abgesaugt und mit Natriumthiosulfatlösung gewaschen, um restliches Iod zu entfernen. Nach Umkristallisation mit MeOH konnten die Benzoflavone als Reinstoff in sehr guten Ausbeuten isoliert werden. Ein großer Vorteil dieser Zwischenstufe lag in der einfachen Erhaltung des aromatischen Zustandes bei der anschließenden Umsetzung mit Hydrazin.

Für die letzte Stufe dienten zwei verschiedene Ansätze als Vorlage.

Methode A: Die säurekatalysierte Umsetzung erfolgte durch Zugabe von Eisessig zum Gemisch aus Benzoflavanon und Ethanol im Ultraschallbad bei 70 °C für 4-5 Stunden. Aus der zunächst trüben Mischung entstand eine klare Lösung, welche das Ende der Reaktion indizierte. Durch Zugabe von Eiswasser konnte das Produkt gefällt und abfiltriert werden. Teilweise war eine Umkristallisation aus Ethanol erforderlich.

Methode B: Diese Alternative wurde aufgrund der Verbindung **78** entwickelt, da sich unter dem Einsatz von Eisessig und den gegebenen Bedingungen der Acetamidorest in Essigsäure und das verbleibende Amin aufspaltete. Das Fehlen der CH<sub>3</sub>-Gruppe konnte mittels NMR verifiziert werden. Unter basischen Bedingungen blieb die Amidfunktion jedoch erhalten. Bei der basenkatalysierten Synthese wurde Lithiumhydroxid eingesetzt und die Durchführung der Reaktion in der Mikrowelle bei 100 °C erprobt, was in einer Verkürzung des Zeitaufwandes auf 30 min resultierte. Einziger Unterschied in der Aufarbeitung war das Ansäuern mit verdünnter HCl nach Zugabe von Eiswasser, um das Produkt zu fällen.

Beide Methoden führten zu moderaten Ausbeuten der Reinstoffe. Da die basenkatalysierte Umsetzung mit Hilfe der Mikrowelle wesentlich schneller von statten ging, war diese bevorzugt.

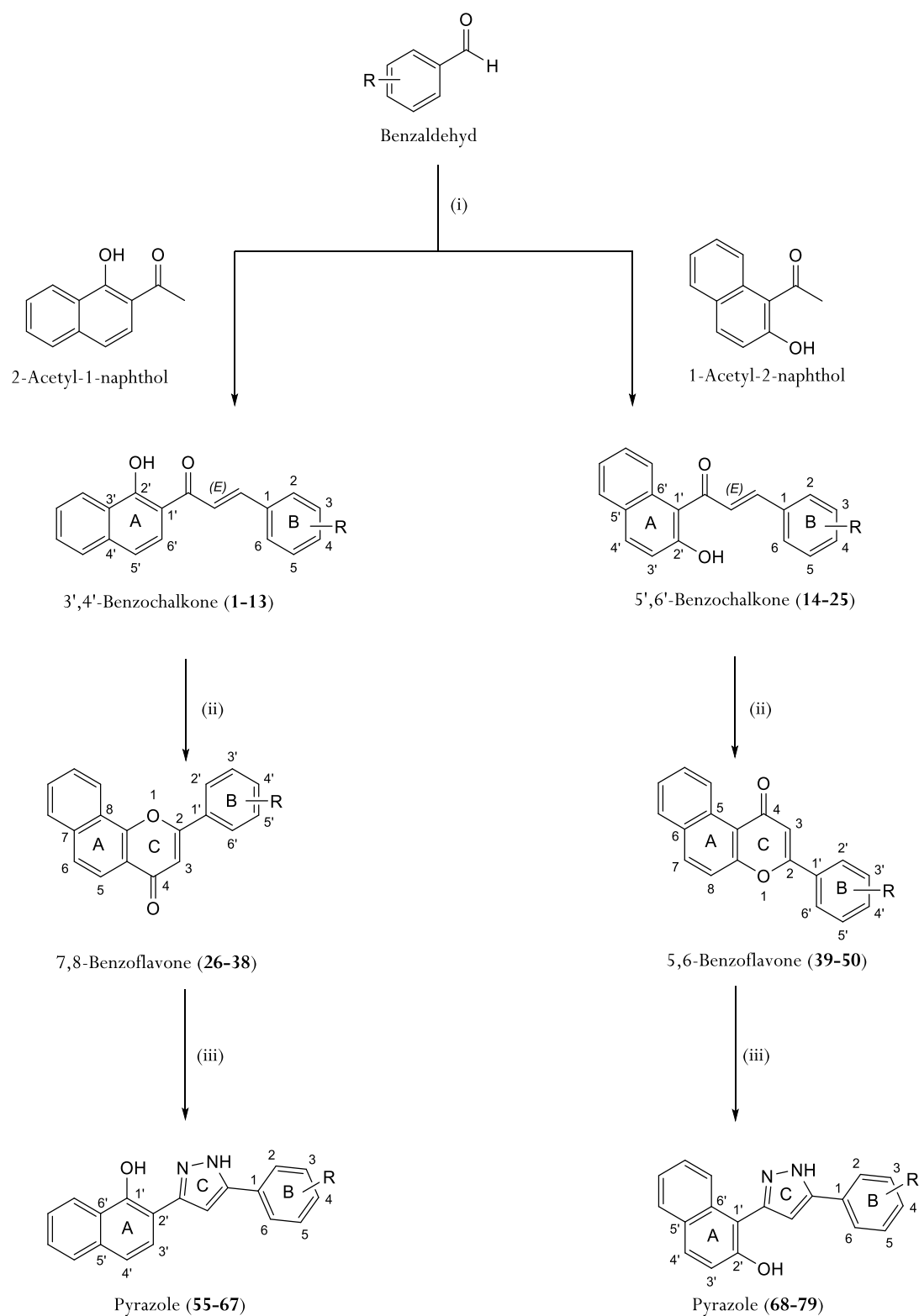


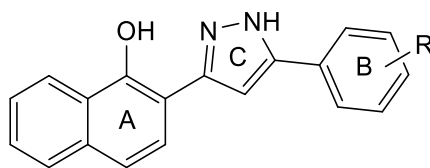
Abbildung 3.6: Allgemeines Syntheschema der Pyrazole: (i) MeOH, LiOH, Ultraschallbad; (ii) I<sub>2</sub>, DMSO, Mikrowelle, 100 W, 130 °C, 30 min; (iii) A: EtOH, Hydrazin-Monohydrat, CH<sub>3</sub>COOH, Ultraschallbad, 70 °C, 4-5 h oder B: MeOH, Hydrazin-Monohydrat, LiOH, Mikrowelle, 100 W, 100 °C, 30 min.

### 3.4 Biologische Testung der Pyrazole

#### 3.4.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

Die im Zuge dieser Arbeit synthetisierten Pyrazole wurden mittels des Pheophorbid A Assays auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie untersucht. Zum Vergleich und zur Überprüfung der Substratspezifität erfolgte zusätzlich die Testung ausgewählter Substanzen im Hoechst 33342 Assay. Die Funktionsweise und Durchführung des Pheophorbid Assays wurde bereits in Kapitel 1.4.1 und 7.2.3.1 und des Hoechst33342 Assays in Kapitel 1.4.2 und 7.2.3.2 diskutiert. Als Standard diente der bekannte ABCG2 Inhibitor Ko143. Die ermittelten IC<sub>50</sub>-Werte sind in den folgenden zwei Tabellen zusammengefasst.

Tabelle 3.2: Inhibitorische Aktivität der 2-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole (55-67) gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie.



Pyrazole (55-67)

| Verbindung | R                        | Heterozyklus<br>Ring B | Pheophorbid A<br>Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* |
|------------|--------------------------|------------------------|--|
| 55         | H                        | -                      | > 20   |
| 56         | 3-OCH <sub>3</sub>       | -                      | 6,38 ± 0,18  |
| 57         | 3,4-OCH <sub>3</sub>     | -                      | 1,43 ± 0,14  |
| 58         | 3-OCH <sub>3</sub> , 4-F | -                      | 6,59 ± 0,57  |
| 59         | 3-Cl                     | -                      | > 20   |
| 60         | 4-Cl                     | -                      | 11, 5 ± 1,8  |
| 61         | 3,4-Cl                   | -                      | > 20   |
| 62         | 3,4-F                    | -                      | 18,1 ± 4,1   |
| 63         | 3-CN                     | -                      | 10,3 ± 1,9   |

| Verbindung | R                 | Heterozyklus<br>Ring B | Pheophorbid A<br>Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* |
|------------|-------------------|------------------------|--|
| 64         | 4-CF <sub>3</sub> | -                      | 13,2 ± 2,1   |
| 65         | 3-NO <sub>2</sub> | -                      | n.e. <sup>a</sup>  |
| 66         | -                 | 3-Pyridyl              | > 20   |
| 67         | -                 | 2-Thienyl              | 11,0 ± 2,3   |
| Ko143      |                   |                        | 0,276 ± 0,040  |

n.e.<sup>a</sup>: nicht ermittelbar, aufgrund schlechter Löslichkeit

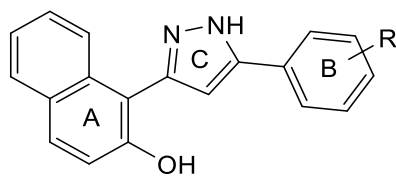
\* Die Bestimmung erfolgte aus mindestens 3 unabhängigen Experimenten.

Die erste Serie an Pyrazolen, die 2-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole (**55-67**), diente der Evaluierung geeigneter Substituenten und zur Überprüfung der These, dass die 1-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ole aktiver sind. Dafür wurden im Zuge dieses Projektes insgesamt 13 Verbindungen dargestellt (siehe Tabelle 3.2). Die Substituenten variieren z.B. von Methoxygruppen über Halogene hin zu Cyano- oder Nitrogruppen. Die Verbindung **57**, welche am Ring B eine 3,4-Dimethoxygruppe trägt, zeigte die beste Aktivität mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1,43 μmol/l. Dagegen besaßen die übrigen Pyrazole nur eine sehr schwache Hemmwirkung gegenüber ABCG2. Die IC<sub>50</sub>-Werte lagen meist über 10 μmol/l. Auch ein Austausch des Phenylrings B gegen Heteroaromaten, wie 3-Pyridyl oder 2-Thienyl, erbrachte keine signifikante Steigerung der Aktivität. Begründet in der schlechten Löslichkeit, war es nicht möglich den IC<sub>50</sub>-Wert für die Verbindung **65** zu bestimmen.

Die zweite Serie an Pyrazolen, die 1-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole (**68-79**), umfasste 12 synthetisierte Verbindungen (siehe Tabelle 3.3). In der vorherigen Substanzreihe zeigte sich bereits der positive Einfluss einer 3,4-Dimethoxy-Substitution am Ring B auf die inhibitorische Aktivität. Dieser Effekt bestätigte sich auch hier, repräsentiert durch die Verbindung **70** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,391 μmol/l (Pheophorbid A Assay). Damit zeigte sie die höchste Aktivität innerhalb der synthetisierten Pyrazole. Die Einfachsubstitution mit Methoxy erwies sich als 5-6-fach schlechter, dabei ist das *meta*-Methoxy-Derivat (**68**) mit einem IC<sub>50</sub> = 2,07 μmol/l etwas besser als das *para*-Methoxy (**69**) mit einem IC<sub>50</sub> = 2,42 μmol/l. Ebenfalls untersucht wurde der Einfluss von Methoxygruppen in Position 2,3 (**71**: IC<sub>50</sub> = 5,86 μmol/l), 3,5 (**72**: IC<sub>50</sub> = 1,57 μmol/l) und 3,4,5 (**73**: IC<sub>50</sub> = 1,38 μmol/l) auf das Verhalten gegenüber ABCG2.

Die 2,3-OCH<sub>3</sub> Substitution verschlechterte die Aktivität drastisch um das 15-fache im Vergleich zu Verbindung **70**. Zwischen der Disubstitution in Position 3,5 und der Trisubstitution in Position 3,4,5 zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Beim Austausch der Substitution am Ring gegen *para*-Chlor (**74**: IC<sub>50</sub> > 20 µmol/l) oder *para*-Trifluormethyl (**76**: IC<sub>50</sub> > 20 µmol/l) war eine Inaktivierung der Substanzen zu beobachten. Ebenso verringerte der Austausch der Etherfunktion gegen einen Thioetherrest (**77**: IC<sub>50</sub> = 2,99 µmol/l) die inhibitorische Aktivität. Als zweitbeste Verbindung stellte sich das Derivat **78** heraus, welches in *para*-Position eine Acetamidofunktion trägt und mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,928 µmol/l eine gute Aktivität aufwies. Während in der ersten Serie für das 3-Nitro-Derivat (**65**) aufgrund schlechter Löslichkeit kein IC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden konnte, wies das Pendant der zweiten Serie (**75**) eine moderate inhibitorische Aktivität von 2,28 µmol/l auf und zeigte keinerlei Löslichkeitsprobleme.

Tabelle 3.3: Inhibitorische Aktivität der 1-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole (**68-79**) gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A und teilweise auch im Hoechst33342 Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zellen.



Pyrazole (**68-79**)

| Verbindung | R                      | Heterozyklus<br>Ring B | Pheophorbid A                              | Hoechst 33342                               |
|------------|------------------------|------------------------|--|---|
|            |                        |                        | Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[µmol/l] | Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[µmol/l]* |
| 68         | 3-OCH <sub>3</sub>     | -                      | 2,07 ± 0,19                                | 1,97 ± 0,29                                 |
| 69         | 4-OCH <sub>3</sub>     | -                      | 2,42 ± 0,31                                | 2,88 ± 0,27                                 |
| 70         | 3,4-OCH <sub>3</sub>   | -                      | 0,391 ± 0,041                              | 0,416 ± 0,052                               |
| 71         | 2,3-OCH <sub>3</sub>   | -                      | 5,86 ± 1,15                                | 10,9 ± 1,7                                  |
| 72         | 3,5-OCH <sub>3</sub>   | -                      | 1,57 ± 0,13                                | 0,934 ± 0,142                               |
| 73         | 3,4,5-OCH <sub>3</sub> | -                      | 1,38 ± 0,11                                | 1,17 ± 0,12                                 |
| 74         | 4-Cl                   | -                      | > 20                                       | n.e.  |

| Verbindung | R                     | Heterozyklus<br>Ring B | Pheophorbid A<br>Assay<br>$IC_{50} \pm SD$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] | Hoechst 33342<br>Assay<br>$IC_{50} \pm SD$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* |
|------------|-----------------------|------------------------|---|--|
| 75         | 3-NO <sub>2</sub>     | -                      | $2,28 \pm 0,33$   | $1,40 \pm 0,13$  |
| 76         | 4-CF <sub>3</sub>     | -                      | > 20  | n.e.   |
| 77         | 4-SCH <sub>3</sub>    | -                      | $2,99 \pm 0,380$  | $3,03 \pm 0,23$  |
| 78         | 4-NHCOCH <sub>3</sub> | -                      | $0,928 \pm 0,059$   | $1,05 \pm 0,06$  |
| 79         | -                     | 2-Thienyl              | $9,35 \pm 1,52$   | n.e.   |

n.e.: nicht ermittelt

\* Die Daten wurden in mindestens 3 unabhängigen Experimenten ermittelt.

Zur Überprüfung der Substratspezifität wurden einige ausgewählte Verbindungen zusätzlich im Hoechst 33342 Assay untersucht. Mittels der erhaltenen  $pIC_{50}$  Daten aus beiden Assays ließ sich ein Scatterplot (Abbildung 3.7) erstellen, welcher durch Lineare Regression analysiert wurde und einen quadrierten Korrelationskoeffizienten ( $r^2$ ) von 0,914 ergab. Dies deutet darauf hin, dass die Inhibition von ABCG2 in Bezug auf Pheophorbid A und Hoechst 33342 nicht substratspezifisch verläuft.

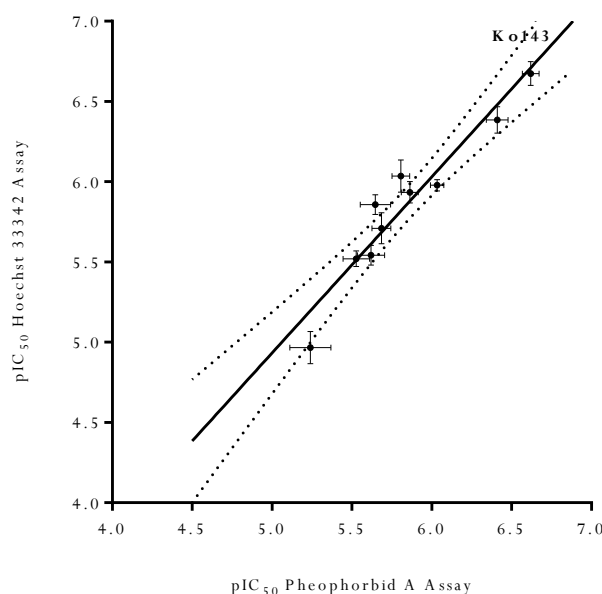


Abbildung 3.7: Scatterplot der ermittelten  $pIC_{50}$ -Werte aus dem Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie. Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert aus drei unabhängigen Experimenten. Der ermittelte quadrierte Korrelationskoeffizient ( $r^2$ ) beträgt 0,914.



Zusammenfassend war der Vorteil der 1-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole (**68-79**) gegenüber den 2-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-olen (**55-67**) deutlich zu erkennen. Zum Vergleich soll jeweils die beste Verbindung beider Serien herangezogen werden. Idealerweise tragen diese jeweils eine 3,4-Dimethoxygruppe an Ring B. Die inhibitorische Aktivität der Verbindung **70** lag dabei um ein 4-faches höher als bei Verbindung **57**. Im Ganzen betrachtet zeigte sich ein erheblicher Einfluss des Naphthoylrestes mit Auswirkung auf das gesamte System, was die Aussage in Zusammenhang mit den Pyrazolinen bestätigte.

### 3.4.2 Bestimmung der inhibitorische Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1

In Zusammenhang mit der Untersuchung der Pyrazole an ABCG2 sollte ebenfalls das Verhalten gegenüber den anderen beiden an der MDR beteiligten ABC Transportern ermittelt werden. Zunächst erfolgte ein Screening aller synthetisierten Verbindungen mittels Calcein AM Assay an der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zelllinie und der ABCC1 überexprimierenden H69AR Zelllinie. Eine ausführlichere Beschreibung der Funktionsweise und Durchführung des Calcein AM Assays findet sich in Kapiteln 1.4.3 und 7.2.3.3. Als finale Konzentration wurden 10 µmol/l gewählt und als Standard diente Cyclosporin A, ein bekannter Inhibitor von ABCB1 und ABCC1. In Abbildung 3.8 (ABCB1 Screening) und Abbildung 3.9 (ABCC1-Screening) sind die Effekte der einzelnen Verbindungen in einem Balkendiagramm graphisch aufgezeigt. Die maximale Inhibition ergab sich im Vergleich zum Standard Cyclosporin A, dessen inhibitorischer Effekt mit 100 % gleichgesetzt wurde.

In der Reihe der 2-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole (**55-67**) war im ABCB1 Screening keine signifikante Aktivität festzustellen, was wiederum mit dem geringen Effekt an ABCG2 korreliert. Die an ABCG2 aktivste Verbindung **57** zeigte keinerlei (> 25%) signifikante Beeinflussung der untersuchten Transportproteine und ist somit ein selektiver ABCG2 Inhibitor.

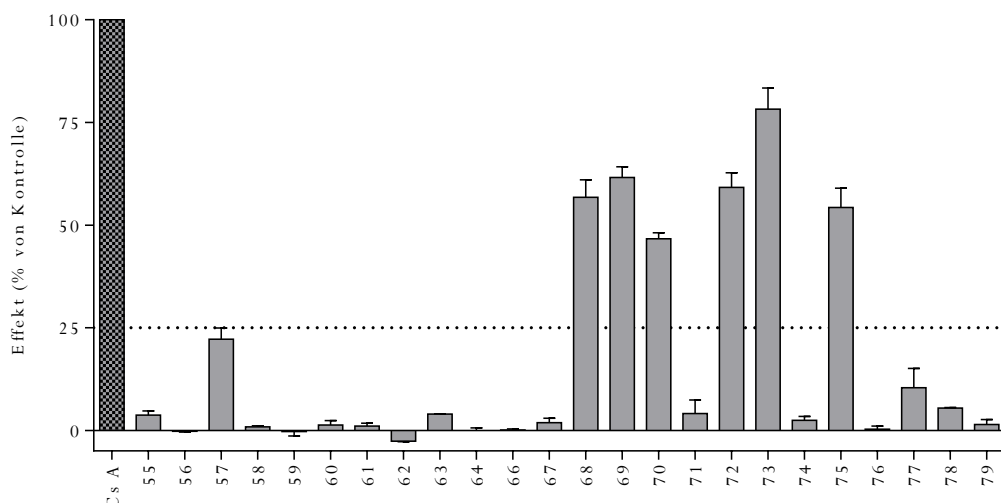


Abbildung 3.8: Effekt der Pyrazole (55-79) im Calcein AM Assay mittels ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$ . Die Daten sind in Prozent bezogen auf den Standard Cyclosporin A angegeben und wurden  $n \geq 3$  getestet.

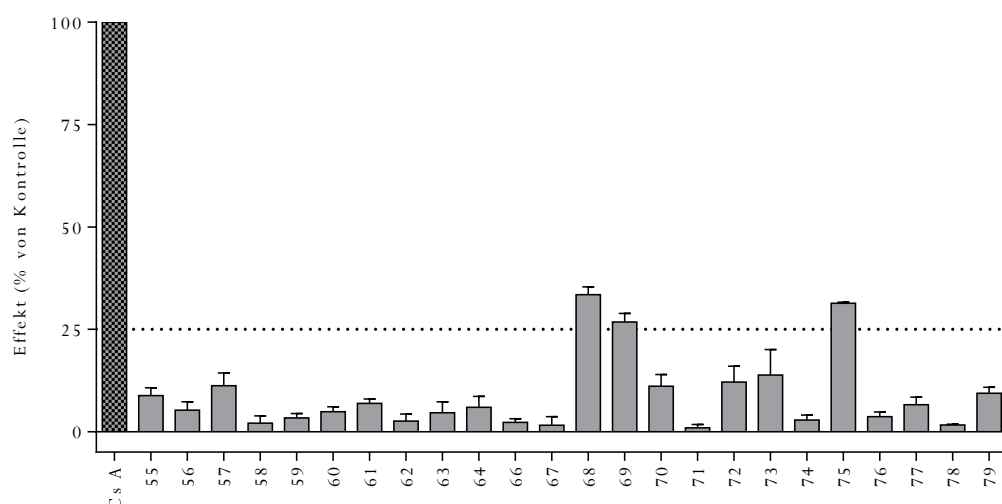


Abbildung 3.9: Effekt der Pyrazole (55-79) im Calcein AM Assay mittels ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$ . Die Daten sind in Prozent bezogen auf den Standard Cyclosporin A angegeben und wurden in mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.

In der Reihe der 1-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ole (**68-79**) zeigten überwiegend die mit Methoxygruppen substituierten Derivate eine erhöhte Affinität zu ABCB1. Mit insgesamt drei Methoxygruppen zählte die Verbindung **73** mit rund 78 % zu den aktivsten Verbindungen, die im ABCB1 Screening einen Effekt  $> 25 \%$  zeigten.

Diese Verbindungen wurden weiterführend untersucht und der  $IC_{50}$  mittels Dosis-Wirkungskurven bestimmt. In Tabelle 3.4 sind die ermittelten  $IC_{50}$ -Werte sowie die dazugehörige maximale Inhibition in Prozent ( $I_{max}$ ) zusammengefasst. Die Verbindung **72** ( $IC_{50} = 1,74 \mu\text{mol/l}$ ) zeigte die höchste Aktivität gegenüber ABCB1, gefolgt von der Verbindung **73** ( $IC_{50} = 2,42 \mu\text{mol/l}$ ). Beide verhielten sich in ihrer Hemmwirkung gegenüber ABCB1 vergleichbar zu dem an ABCG2 und können somit als Dualmodulatoren bezeichnet werden. Eine ebenfalls moderate Aktivität zeigte die Verbindung **75** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $2,50 \mu\text{mol/l}$ , welche am Ring B mit einer Nitrogruppe in *meta*-Position substituiert ist.

*Tabelle 3.4: Inhibitorische Aktivität ausgewählter Verbindungen unter Angabe der gemittelten  $IC_{50}$ -Werte  $\pm$  SD und maximaler Inhibition ( $I_{max}$ ) im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen ( $n \geq 3$ ). Zum Vergleich erfolgte die Messung gegen den Standard Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition).*

| Verbindung    | Rest                   | Calcein AM Assay<br>$IC_{50} \pm \text{SD} [\mu\text{mol/l}]$ | $I_{max} \pm \text{SD} [\%]$ |
|---------------|------------------------|---|------------------------------|
| 68            | 3-OCH <sub>3</sub>     | $4,52 \pm 0,68$   | $57 \pm 10$                  |
| 69            | 4-OCH <sub>3</sub>     | $4,28 \pm 0,21$   | $62 \pm 5$                   |
| 70            | 3,4-OCH <sub>3</sub>   | $7,52 \pm 0,99$   | n.e.*                        |
| 72            | 3,5-OCH <sub>3</sub>   | $1,74 \pm 0,21$   | $59 \pm 6$                   |
| 73            | 3,4,5-OCH <sub>3</sub> | $2,42 \pm 0,44$   | $78 \pm 10$                  |
| 75            | 3-NO <sub>2</sub>      | $2,50 \pm 0,18$   | $54 \pm 9$                   |
| Cyclosporin A |                        | $1,21 \pm 0,16$   | 100                          |

$I_{max}$  = maximaler Effekt in Relation zum Standard

n.e.\* = nicht ermittelbar, da topfixiert auf Cs A

Es ist allgemein bekannt, dass Methoxygruppen die Selektivität herabsetzen und diese Verbindungen an ABCB1 eine erwähnenswerte inhibitorische Aktivität aufweisen können [205]. Trotz einem  $I_{max}$  von 47 % zeigte der aktivste ABCG2 Inhibitor (**70**) mit einem  $IC_{50}$  von  $7,52 \mu\text{mol/l}$  nur eine sehr schwache Hemmwirkung an ABCB1.

Bezüglich der Aktivität gegenüber ABCC1 zeigten alle entwickelten Pyrazole nur eine geringe (siehe Verb. **68**, **69** und **75**) bzw. gänzlich fehlende Hemmwirkung und können als selektiv eingestuft werden.

### 3.4.3 MTT Assay - Zytotoxizität ausgewählter Pyrazole

Zur weiteren Charakterisierung der Pyrazole wurden ausgewählte Verbindungen zusätzlich auf ihre intrinsische Zytotoxizität überprüft. Dies geschah mittels des MTT Assays, wobei MDCK II BCRP und zum Vergleich MDCK II Wildtyp Zellen über einen Zeitraum von 72 Stunden mit unterschiedlichen Konzentrationen des Inhibitors inkubiert wurden. Die höchste Konzentration betrug 100  $\mu\text{mol/l}$ . Anschließend wurden die Zellen mit dem gelben Farbstoff MTT versetzt und für eine weitere Stunde bei 37 °C und 5 %  $\text{CO}_2$ -Atmosphäre inkubiert.

Dabei erfolgt in lebenden Zellen die Umsetzung von MTT zum blau-violetten Formazan durch mitochondriale Reduktasen. Die Intensität des Formazans ließ sich photometrisch bestimmen und gab Aussage über die Lebensfähigkeit der Zellen. Die ermittelten  $\text{GI}_{50}$ -Werte sind in Tabelle 3.5 aufgeführt. Eine ausführliche Beschreibung der Funktionsweise und Durchführung des MTT Assays findet sich in den Kapiteln 1.4.4 und 7.2.3.4.

Zur Überprüfung der Zytotoxizität wurden vier der aktivsten Verbindungen ausgewählt, welche sich zudem noch stark in den Substituenten unterschieden. Des Weiteren sollte der Unterschied zwischen den 2-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-olen, repräsentiert durch Verbindung **57** und den 1-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-olen, repräsentiert durch Verbindung **70** untersucht werden. Dabei stellte sich heraus, dass letztere mit einem  $\text{GI}_{50} = 53 \mu\text{mol/l}$  nur geringfügig toxisch und das Derivat **57** mit einem  $\text{GI}_{50} = 16 \mu\text{mol/l}$  moderat toxisch war. Im Vergleich dazu zeigten die Verbindungen **75** (substituiert mit einer Nitrogruppe) und **78** (substituiert mit einem Acetamidorest) ebenfalls eine moderate Zytotoxizität mit  $\text{GI}_{50}$ -Werten um 25  $\mu\text{mol/l}$ .

*Tabelle 3.5: Intrinsische Zytotoxizität ausgewählter Pyrazole ermittelt im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie.*

| Verbindung | MDCK II BCRP<br>$\text{GI}_{50} \pm \text{SD}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] | MDCK II Wildtyp<br>$\text{GI}_{50} \pm \text{SD}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] |
|------------|---|--|
| 57         | $15,9 \pm 0,6$  | $16,3 \pm 1,3$   |
| 70         | $52,9 \pm 10,7$   | $55,7 \pm 6,2$   |
| 75         | $21,5 \pm 3,3$  | $19,2 \pm 4,3$   |
| 78         | $29,9 \pm 4,2$  | $29,5 \pm 1,4$   |

\*  $n \geq 3$ , bis zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$

In den zellbasierten Assays zur Untersuchung der inhibitorischen Aktivität betrug die maximale Konzentration der untersuchten Verbindungen 10  $\mu\text{mol/l}$ . Das Balkendiagramm in Abbildung 3.10 veranschaulicht die Zellvitalität der ausgewählten Pyrazole bei 10  $\mu\text{mol/l}$ . Mit einer Zellvitalität zwischen 70-90 % wiesen die Verbindungen keine nennenswerte Toxizität auf. Als Vergleich diente die intrinsische Zytotoxizität von Ko143.

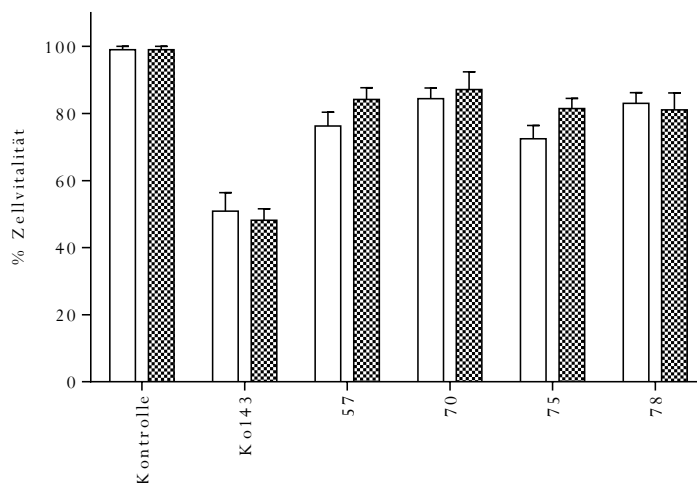


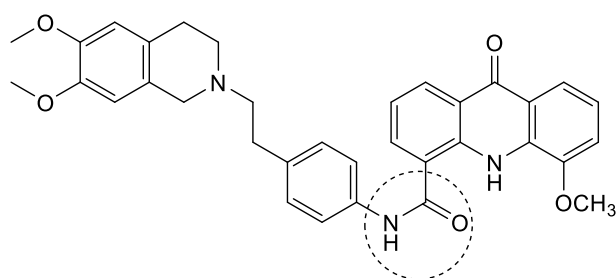
Abbildung 3.10: Balkendiagramm zur Veranschaulichung des Effektes der Verbindungen 57, 70, 75 und 78 bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  auf die Zellvitalität, welcher mittels MTT Assay in MDCK II BCRP Zellen (weiß) und MDCK II Wildtyp Zellen (dunkel) bestimmt wurde. Zum Vergleich diente der Standardinhibitor Ko143 und als Kontrolle dienten Zellen ohne Zusatz eines Modulators.

## 3.5 Resümee der Pyrazole

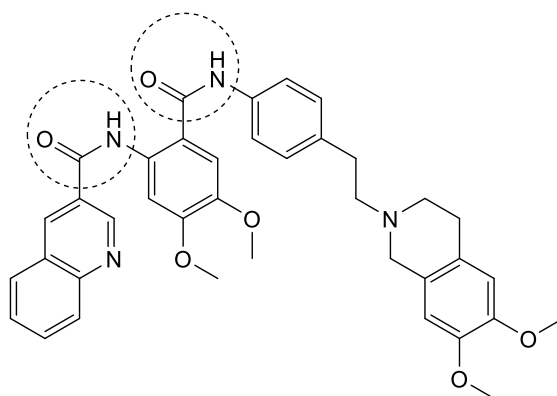
Mit dem Ziel der Entwicklung neuartiger Chalkon-Derivate als ABCG2 Inhibitoren entstanden im Zuge dieser Arbeit 25 Vertreter der Klasse der Pyrazole. Diese wurden sowohl auf ihr inhibitorisches Potential gegenüber ABCG2, als auch auf Selektivität und Zytotoxizität untersucht. Zunächst verdeutlichte der Vergleich zwischen synthetisierten Pyrazolinen und Pyrazolen die Relevanz eines durchkonjugierten Systems für weitere Optimierung der Grundstruktur. Des Weiteren konnte ein eindeutiger Unterschied zwischen den 2-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-olen und den 1-(5-substituierten-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-olen festgestellt werden. Jener verweist auf den enormen Einfluss der Stellung des Naphthoylrestes zum Pyrazolring auf die inhibitorische Aktivität. Grundsätzlich zeigte keines der synthetisierten Derivate einen relevanten Einfluss auf die Hemmung der Funktion von ABCC1, jedoch vereinzelte eine erhöhte Affinität zu ABCB1, welche hauptsächlich in der Substitution mit Methoxygruppen begründet lag. Als potentester ABCG2 Inhibitor stellte sich Verbindung **70** heraus, mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,391 µmol/l im Pheophorbid A Assay. Zusätzlich zeigte sie nur eine geringfügige Zytotoxizität und keine signifikante Hemmung von ABCB1 und ABCC1. Letztlich führte die Aufhebung der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylstruktur nicht zum gewünschten Erfolg in Bezug auf die Entwicklung potenter ABCG2 Inhibitoren.

## 4 Projekt II: Acryloylphenylcarboxamide

Einige bekannte Dualinhibitoren von ABCB1 und ABCG2 verfügen über einen Amidlinker innerhalb des Moleküls, welcher einen zumeist größeren aromatischen und hydrophoben Molekülbau- stein mit einer weiteren Partialstruktur verknüpft. Der Vorteil einer Amidknüpfung liegt unter anderem in der hohen Stabilität und dem Donor-Akzeptorverhalten. Die Leitstrukturen Elacridar [206] und Tariquidar [70] zum Vorbild sollte eine neuartige Stoffklasse von Chalkon-Derivaten entstehen, wobei über einen Amidlinker die Molekülgröße der Chalkone um einen zusätzlichen aromatischen Rest erweitert wurde. Die entsprechenden Leitstrukturen sind in Abbildung 4.1 dargestellt. Grundsätzlich gibt es noch eine Vielzahl weiterer Derivate von ABCG2 Inhibitoren, welche auf einen Amidlinker innerhalb der Struktur verweisen [199,207,208].



Elacridar (GF120918)



Tariquidar (XR9576)

Abbildung 4.1: Strukturen der Dualinhibitoren (ABCB1 / ABCG2) Elacridar und Tariquidar.

Um diese Thematik näher zu erforschen, wurde eine Substanzbibliothek bestehend aus insgesamt 60 Acryloylphenylcarboxamiden synthetisiert und auf ihr biologisches Verhalten gegenüber den ABC Transportern untersucht. Weiterhin entstanden im Zuge dieser Arbeit sechs Acryloylphenylcarboxylate, welche durch den Austausch der Amidfunktion gegen eine Esterfunktion gekennzeichnet sind. Zusammenfassend sollte evaluiert werden, in wie weit sich die Hemmwirkung der Chalkone gegenüber ABCG2 durch eine Molekülerweiterung beeinflussen lässt.

Die erhobenen Daten der ersten [209] und zweiten Serie an Acryloylphenylcarboxamiden sowie der Carboxylate [210] wurden bereits teilweise veröffentlicht.

### 4.1 Acryloylphenylcarboxamide – Serie A

Die erste Serie der Acryloylphenylcarboxamide diente der Untersuchung drei wichtiger Fragestellungen im Zusammenhang mit der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2.

1. Welchen Einfluss besitzt die Position des Amidlinkers am Chalkongrundgerüst?
2. Ist die Substitution am Ring B mit Methoxygruppen essentiell?
3. Welche Substituenten am Amid senken bzw. steigern die inhibitorische Aktivität?

Dazu wurden drei Gruppen von Acryloylphenylcarboxamiden mit einem Amidlinker, in *meta*-, *para*- oder *ortho*-Position synthetisiert. Zunächst wurde die Substitution am Ring B des Chalkons einheitlich gewählt. Die Entscheidung für 3,4-Dimethoxy am Ring B erschien am sinnvollsten, basierend auf bereits erhobenen Daten zu Chalkonen, wo diese Substitution jeweils zu einer Steigerung der Aktivität führte [167]. Im späteren Verlauf wurden diese Gruppen ebenfalls ausgetauscht und der Einfluss auf die Aktivität näher untersucht.

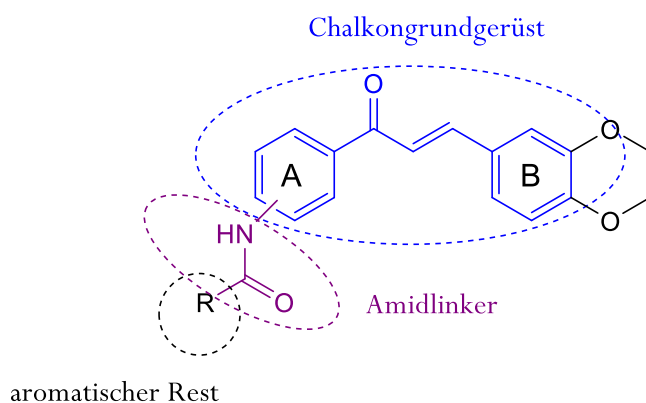


Abbildung 4.2: Partialstrukturen der Acryloylphenylcarboxamide.



### 4.1.1 Synthese der Acryloylphenylcarboxamide

In Serie A der Acryloylphenylcarboxamide lag der Fokus (Abbildung 4.3) in erster Linie auf einer Modifikation des Amidlinkers und dessen Position am Chalkongrundgerüst. Dazu wurde eine Substanzreihe von insgesamt 36 Verbindungen synthetisiert.

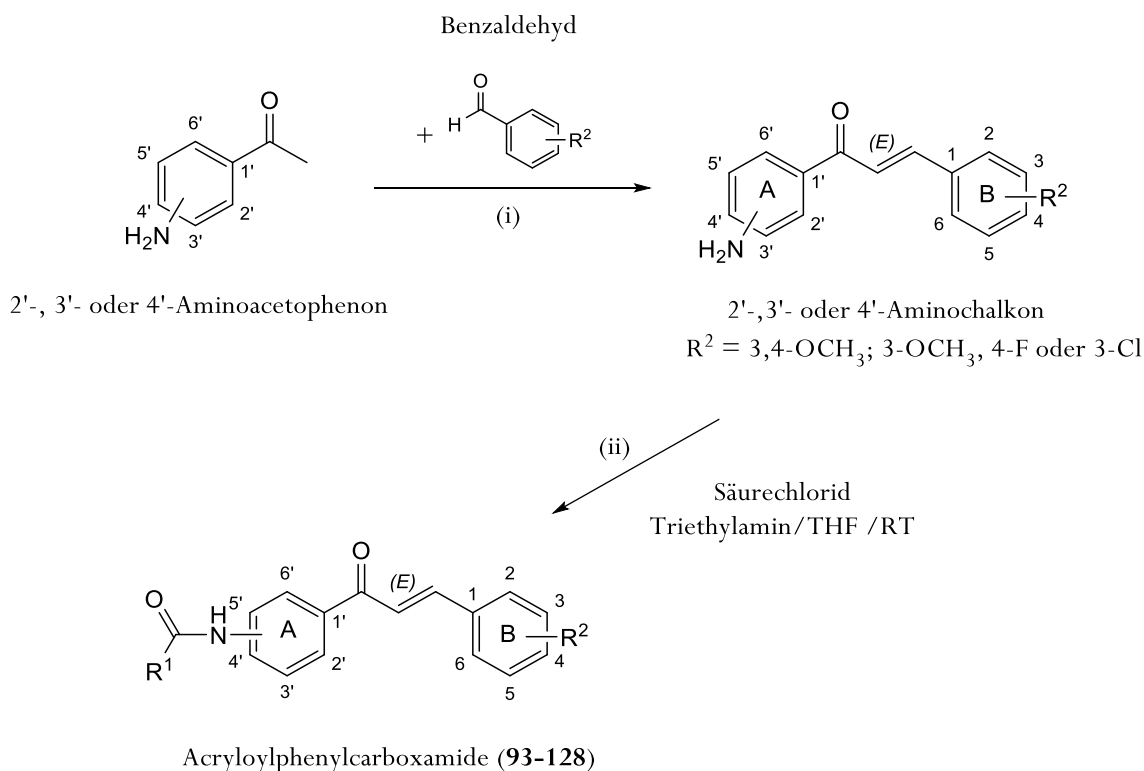


Abbildung 4.3: Syntheschema der Acryloylphenylcarboxamide: (i) verschieden substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Ultraschallbad; (ii) substituiertes Säurechlorid, Überschuss Triethylamin, THF, RT.

Ausgangspunkt der Darstellung von Acryloylphenylcarboxamiden war die Synthese von Aminochalkonen. Dazu erfolgte die basenkatalysierte Umsetzung von 2'-, 3'- oder 4'-Aminoacetophenon mit dem entsprechend substituierten Benzaldehyd im Ultraschallbad. Die Aufarbeitung der Suspension mit Eiswasser und verdünnter HCl erhöhte die Ausbeute der Produkte.

Nach erfolgreicher Isolierung des Chalkons konnte dieses unter Zugabe von Triethylamin in THF mit unterschiedlich substituierten Säurechloriden unter Ausbildung eines Amidlinkers verknüpft werden. Der Ansatz rührte stets über Nacht (ca. 12 h) bei Raumtemperatur. Nach Beendigung der Reaktion wurde das ausgefallene Triethylammoniumchlorid durch Filtration abgetrennt und das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Der meist ölige Rückstand wurde in wenig Ethanol aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Da sich die Produkte selbst nicht in EtOH lösten, konnte

mittels Heißfiltration die Verunreinigungen abgetrennt werden. Im Falle der Verbindungen **94** und **108** war keine Umkristallisation aus Ethanol möglich. Der zu Beginn ölige Rückstand löste sich in der Siedehitze vollständig im Lösungsmittel, kristallisierte aber nach anschließender Abkühlung nicht wieder aus. Es bildete sich ein matschiger Rückstand, verursacht durch das Vorhandensein überschüssigen Eduktes. Letztlich führte das Lösen in Dichlormethan und Fällen mit Petrolether zur Isolierung beider Reinstoffe.

### 4.1.2 Biologische Testung der Acryloylphenylcarboxamide – Serie A

#### 4.1.2.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

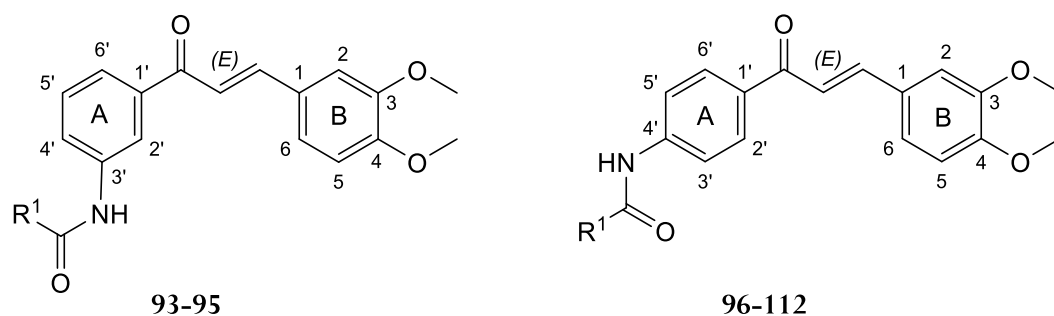
Der inhibitorische Effekt der Acryloylphenylcarboxamide **93–128** gegenüber ABCG2 wurde im Pheophorbid A Assay (P) und teilweise auch im Hoechst 33342 Assay (H) unter Verwendung der MDCK II BCRP Zellen untersucht. Eine Zusammenstellung der IC<sub>50</sub>-Werte findet sich in Tabelle 4.1 (**93–112**, *meta*- und *para*-Position des Amidlinkers) und Tabelle 4.2 (**113–128**, *ortho*-Amidlinker).

Die erste Gruppe umfasst drei Verbindungen, welche den Amidlinker in der *meta*-Position tragen und am Rest 1 mit Phenyl (**93**), 4-Nitrophenyl (**94**) oder 3-Bromphenyl (**95**) substituiert sind. Verbindung **93** zeigte die beste Aktivität im Pheophorbid A Assay mit einem IC<sub>50</sub> von 2,18 µmol/l, gefolgt von Verbindung **95** (IC<sub>50</sub>=2,99 µmol/l). Aufgrund der geringen Tendenz ABCG2 zu hemmen, wurde von der Entwicklung weiterer Derivate abgesehen.

Die zweite Gruppe beinhaltet alle Verbindungen (**96–112**), welche den Amidlinker in *para*-Position tragen. In einem ersten Vergleich zeigte die mit Phenyl substituierte Verbindung **96** (P: IC<sub>50</sub>= 1,30 µmol/l, H: IC<sub>50</sub>= 1,15 µmol/l) eine 2-fach höhere Aktivität gegenüber ABCG2, als das *meta*-Analogon (**93**). Die ausgewählten Substituenten am Benzamid sind unterteilt in Halogene, Methoxygruppen und stark desaktivierende Reste, wie z.B. Nitro- oder Cyanogruppen. Dadurch sollte ein breites Spektrum an möglichen Variationen abgedeckt und eine Struktur-Wirkungs-Beziehung abgeleitet werden. Hinsichtlich der Substituenten am Benzamid stellte sich in nahezu allen Fällen die *meta*-/*ortho*-Substitution als vergleichbar heraus, gefolgt von der *para*- und Di-Substitution (*meta/para*). In der Reihe der Halogene wurde Verbindung **100** (3-Bromphenylrest) als potentester Inhibitor identifiziert, mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1,74 µmol/l im Pheophorbid A Assay und 0,893 µmol/l im Hoechst 33342 Assay. Vertreter mit einem Chlorsubstituenten, zeigten eine vergleichbare Aktivität, gefolgt von Fluor. Im Vergleich zur Verbindung

**96** zeigten die desaktivierenden Reste (Nitro-, Cyano- und Trifluormethyl) eine Verringerung des inhibitorischen Effekts. Insbesondere lagen die  $IC_{50}$ -Werte von 4- $NO_2$ -phenyl (**99**) und 4- $CF_3$ -phenyl (**107**) über 10  $\mu\text{mol/l}$ . Innerhalb der Methoxysubstitution tat sich eine Besonderheit auf. Obwohl 3,4,5-Trimethoxy (**112**; P:  $IC_{50}$  = 3,04  $\mu\text{mol/l}$ ) und 3,4-Dimethoxy (**111**; P:  $IC_{50}$  = 3,15  $\mu\text{mol/l}$ ) weniger aktiv als 2- oder 3-Methoxy waren, zeigten sie eine 2-fach bessere Aktivität als 4-Methoxy (**110**; P:  $IC_{50}$  = 6,61  $\mu\text{mol/l}$ ). Zusammenfassend kristallisierte sich heraus, dass die Phenyl-Substitution am effektivsten war, gefolgt von einer Halogen- und Methoxy-phenyl Substitution. Weiterhin zeigte sich, dass der Amidlinker in *para*-Position dem in *meta*-Position überlegen ist.

Tabelle 4.1: Synthetisierte Acryloylphenylcarboxamide **93-112** und ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie. Ko143 diente dabei als Standard.



| Verbindung | R <sup>1</sup>    | Pheophorbid A Assay<br>$IC_{50} \pm SD$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* | Hoechst 33342 Assay<br>$IC_{50} \pm SD$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* |
|------------|-------------------|--|--|
| 93         | Phenyl            | 2,18 $\pm$ 0,13  | n.e.   |
| 94         | 4- $NO_2$ -phenyl | > 10   | n.e.   |
| 95         | 3-Br-phenyl       | 2,99 $\pm$ 0,14  | n.e.   |
| 96         | Phenyl            | 1,30 $\pm$ 0,17  | 1,15 $\pm$ 0,15  |
| 97         | 2- $NO_2$ -phenyl | 2,98 $\pm$ 0,40  | n.e.   |
| 98         | 3- $NO_2$ -phenyl | 2,82 $\pm$ 0,19  | n.e.   |
| 99         | 4- $NO_2$ -phenyl | > 10   | n.e.   |
| 100        | 3-Br-phenyl       | 1,74 $\pm$ 0,04  | 0,893 $\pm$ 0,059  |
| 101        | 4-Br-phenyl       | 2,94 $\pm$ 0,16  | 1,67 $\pm$ 0,24  |
| 102        | 3-Cl-phenyl       | 2,39 $\pm$ 0,28  | 1,51 $\pm$ 0,18  |
| 103        | 4-Cl-phenyl       | 1,87 $\pm$ 0,10  | 1,76 $\pm$ 0,13  |

| Verbindung | R <sup>1</sup>                 | Pheophorbid A Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD [µmol/l]* | Hoechst 33342 Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD [µmol/l]* |
|------------|--------------------------------|--|--|
| 104        | 3,4-Cl-phenyl                  | 2,95 ± 0,20  | n.e.   |
| 105        | 2-F-phenyl                     | 4,93 ± 0,53  | 2,36 ± 0,09  |
| 106        | 4-CN-phenyl                    | 2,80 ± 0,16  | n.e.   |
| 107        | 4-CF <sub>3</sub> -phenyl      | > 10   | n.e.   |
| 108        | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl     | 2,48 ± 0,07  | 2,41 ± 0,22  |
| 109        | 3-OCH <sub>3</sub> -phenyl     | 2,18 ± 0,14  | n.e.   |
| 110        | 4-OCH <sub>3</sub> -phenyl     | 6,61 ± 0,29  | 4,49 ± 0,14  |
| 111        | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl   | 3,15 ± 0,20  | 1,55 ± 0,32  |
| 112        | 3,4,5-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,04 ± 0,32  | n.e.   |
| Ko 143     |                                | 0,276 ± 0,040  | 0,221 ± 0,024  |

*n.e.* = nicht ermittelt

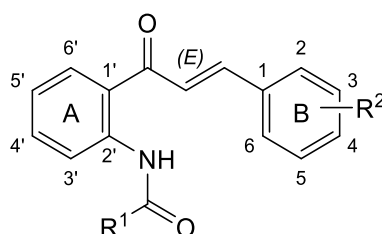
\* IC<sub>50</sub>-Werte und Standardabweichungen wurden aus mindestens drei unabhängigen Experimenten erhalten.

Die dritte Gruppe an Verbindungen (**113–128**) trägt den Amidlinker in *ortho*-Position und wurde in zwei Teile untergliedert. Teil 1 (**113–124**) umfasst diejenigen Derivate, welche eine 3,4-Dimethoxy-Substitution am Ring B des Chalkons besitzen und die besten Substituenten der Gruppe 2 (sowie ausgewählten Heterozyklen) tragen. Auch hier soll zunächst der Vergleich zur *para*-Gruppe mittels der Phenyl-substituierten Verbindung gezogen werden. Für die Verbindung **113** wurde ein IC<sub>50</sub>-Wert von 0,982 µmol/l im Pheophorbid A und 0,500 µmol/l im Hoechst 33342 Assay ermittelt und sie zeigte damit eine 1,5-fach bessere inhibitorische Aktivität als Verbindung **96** (P: IC<sub>50</sub> = 1,30 µmol/l; H: IC<sub>50</sub> = 1,15 µmol/l). Dies unterstreicht die Abhängigkeit des Effektes gegenüber ABCG2 von der Position des Amidlinkers. Die *ortho*-Position ist dabei bevorzugt gegenüber *para*, gefolgt von *meta*. Zu den aktivsten Modulatoren der Gruppe 3 zählen die Derivate **113**, **114** (P: IC<sub>50</sub> = 0,767 µmol/l, H: IC<sub>50</sub> = 0,436 µmol/l), **119** (P: IC<sub>50</sub> = 1,12 µmol/l, H: IC<sub>50</sub> = 0,629 µmol/l), **120** (P: IC<sub>50</sub> = 0,971 µmol/l, H: IC<sub>50</sub> = 0,573 µmol/l) und **124** (P: IC<sub>50</sub> = 0,600 µmol/l, H: IC<sub>50</sub> = 0,501 µmol/l). Innerhalb der Variationen des Amidrestes zeigte die Chlorphenylsubstitution eine bessere Aktivität gegenüber Methoxyphenyl, und 2-Thienyl die höchste Hemmwirkung in der Reihe der heterozyklischen Reste. Die Verbindung **123**, ein Chromenyl-Derivat, wurde als möglicher fluoreszenzmarkierter Inhibitor designed, um

eingehendere Studien der Interaktion mit dem Transporter zu ermöglichen bzw. sichtbar zu machen. Jedoch war dieses Derivat inaktiv gegenüber ABCG2.

Im zweiten Teil (**125-128**) der Gruppe 3 wurde das Substitutionsmuster des Chalkons am Ring B variiert, von 3,4-Dimethoxy- zu 3-Chlor- oder 3-Methoxy-4-Fluor-Substitution. In allen Fällen führte der Substitutionswechsel zu einer drastischen Senkung der inhibitorischen Aktivität. Diese Resultate verweisen auf den positiven Effekt einer 3,4-Dimethoxysubstitution am Ring B des Chalkons bzw. auf das generelle Vorhandensein einer Mehrfachsubstitution mit Methoxygruppen.

*Tabelle 4.2: Synthetisierte Acryloylphenylcarboxamide 113-128 und ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie. Ko143 diente als Standard.*



**113-128**

| Verbindung | R <sup>1</sup>             | R <sup>2</sup>       | Pheophorbid A                               | Hoechst 33342                               |
|------------|----------------------------|----------------------|---|---|
|            |                            |                      | Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* | Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* |
| 113        | Phenyl                     | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,982 ± 0,149                               | 0,500 ± 0,009                               |
| 114        | 3-Cl-phenyl                | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,767 ± 0,011                               | 0,436 ± 0,052                               |
| 115        | 4-Cl-phenyl                | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,86 ± 0,16                                 | n.e.  |
| 116        | 2-NO <sub>2</sub> -phenyl  | 3,4-OCH <sub>3</sub> | > 20  | n.e.  |
| 117        | 3-NO <sub>2</sub> -phenyl  | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 19,7 ± 7,2                                  | n.e.  |
| 118        | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,23 ± 0,06                                 | 0,997 ± 0,149                               |
| 119        | 3-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,12 ± 0,11                                 | 0,629 ± 0,046                               |
| 120        | 3-Chinoliny                | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,971 ± 0,084                               | 0,573 ± 0,046                               |

| Verbindung | R <sup>1</sup>                        | R <sup>2</sup>           | Pheophorbid A                               | Hoechst 33342                               |
|------------|---------------------------------------|--------------------------|---|---|
|            |                                       |                          | Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* | Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* |
| 121        | 1-Naphthyl                            | 3,4-OCH <sub>3</sub>     | 1,08 ± 0,07                                 | 0,851 ± 0,162                               |
| 122        | 3-Pyridyl                             | 3,4-OCH <sub>3</sub>     | 2,01 ± 0,09                                 | 1,08 ± 0,08                                 |
| 123        | 7-OCH <sub>3</sub> -2-oxo-3-chromenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub>     | n.a.  | n.e.  |
| 124        | 2-Thienyl                             | 3,4-OCH <sub>3</sub>     | 0,600 ± 0,010                               | 0,501 ± 0,050                               |
| 125        | 3-Cl-phenyl                           | 3-Cl                     | n.a.  | n.e.  |
| 126        | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl          | 3-Cl                     | 3,32 ± 0,18                                 | n.e.  |
| 127        | 2-Thienyl                             | 3-OCH <sub>3</sub> , 4-F | 3,37 ± 0,05                                 | n.e.  |
| 128        | 3-Cl-phenyl                           | 3-OCH <sub>3</sub> , 4-F | 10,6 ± 0,6                                  | n.e.  |
| Ko 143     |                                       |                          | 0,276 ± 0,040                               | 0,221 ± 0,024                               |

*n.e.* = nicht ermittelt, *n.a.* = nicht aktiv

\* IC<sub>50</sub>-Werte und Standardabweichungen wurden aus mindestens drei unabhängigen Experimenten erhalten.

Um die ermittelten IC<sub>50</sub>-Werte aus beiden Assays hinsichtlich einer eventuell vorliegenden Substratspezifität untersuchen zu können, wurde anhand der pIC<sub>50</sub>-Werte aus beiden Assays ein Scatterplot (Abbildung 4.4) generiert und mit Hilfe linearer Regression analysiert. Dabei ergab sich ein quadrierter Korrelationskoeffizient ( $r^2$ ) von 0,90, was wiederum auf eine nicht-substratspezifische (für Pheophorbid A und Hoechst 33342) Interaktion mit dem Transportprotein hindeutet.

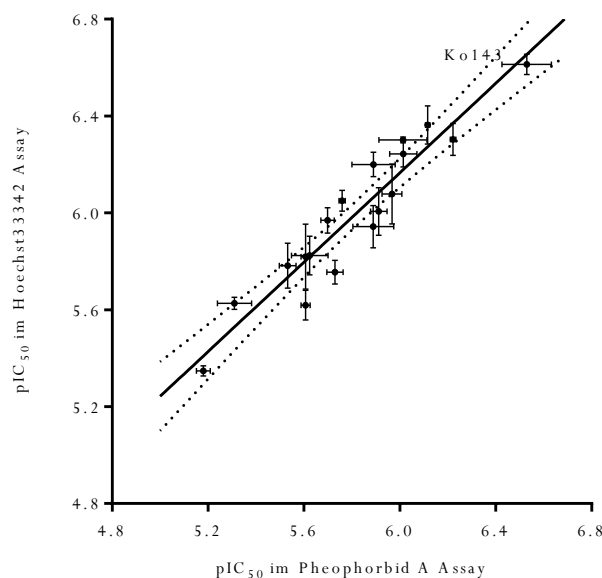


Abbildung 4.4: Scatterplot der  $pIC_{50}$ -Werte in Zusammenhang mit der Inhibition von ABCG2 bestimmt im Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay. Jeder Punkt ist der Mittelwert aus mindestens drei unabhängigen Experimenten. Der quadrierte Korrelationskoeffizient ( $r^2$ ) beträgt 0,90 bei einer Anzahl von 16 Verbindungen.

#### 4.1.2.2 Bestimmung der inhibitorische Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1

Die synthetisierten Acryloylphenylcarboxamide wurden hinsichtlich ihrer Selektivität bzw. auf die Fähigkeit ABCB1 und ABCC1 zu inhibieren bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  gescreent. Als Standard diente Cyclosporin A (10  $\mu\text{mol/l}$ ; 100 % Inhibition), ein bekannter Inhibitor beider ABC Transporter. Dazu wurde der Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr und ABCC1 überexprimierenden H69AR Zelllinie durchgeführt. Die Abbildung 4.5 (ABCB1-Screening) und Abbildung 4.6 (ABCC1-Screening) veranschaulichen den Effekt (gegeben in Prozent bezogen auf den Standard) der Acryloylphenylcarboxamide bei einer fixierten Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$ .

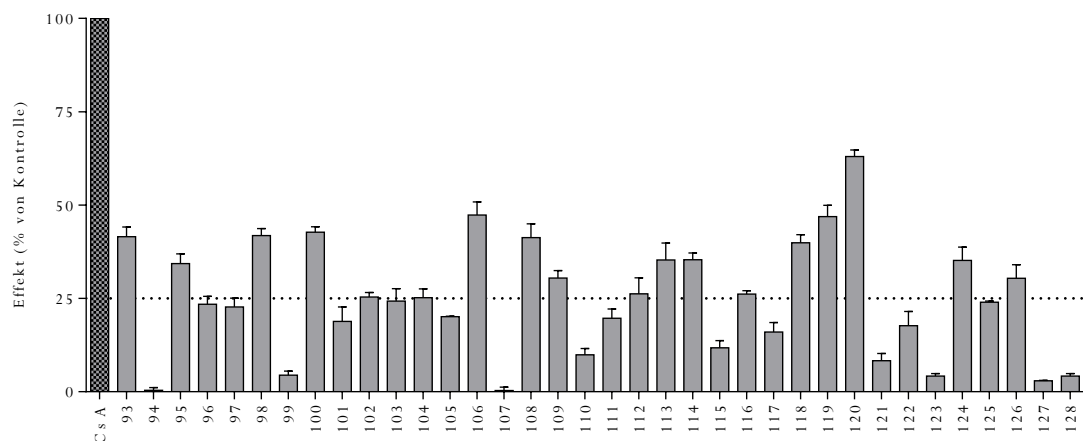


Abbildung 4.5: Effekt der Acryloylphenylcarboxamide (93-128) im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$ . Die Daten ( $n \geq 3$ ) sind in Prozent gegeben, bezogen auf den Standard Cyclosporin A (100 %).

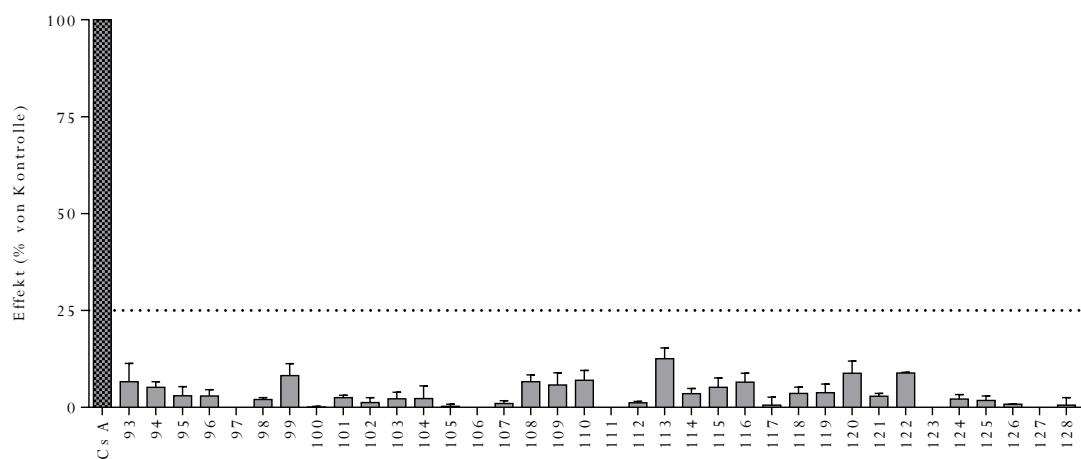


Abbildung 4.6: Effekt der Acryloylphenylcarboxamide (93-128) im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$ . Die Daten ( $n \geq 3$ ) sind in Prozent gegeben, bezogen auf den Standard Cyclosporin A (100 %).



Tabelle 4.3: Inhibitorischer Effekt ausgewählter Verbindungen gegenüber ABCB1 bestimmt im Calcein AM Assay unter Verwendung der resistenten A2780adr Zelllinie.

| Verbindung    | Calcein AM Assay<br>$IC_{50} \pm SD$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* | $I_{\text{max}} \pm SD$ [%]* |
|---------------|---|------------------------------|
| 93            | $1,65 \pm 0,37$   | $38 \pm 6$                   |
| 95            | $2,36 \pm 0,25$   | $34 \pm 4$                   |
| 98            | $1,13 \pm 0,02$   | $45 \pm 3$                   |
| 100           | $0,529 \pm 0,048$   | $43 \pm 3$                   |
| 106           | $1,45 \pm 0,08$   | $47 \pm 7$                   |
| 108           | $1,34 \pm 0,10$   | $41 \pm 5$                   |
| 109           | $5,33 \pm 0,57$   | $37 \pm 9$                   |
| 112           | $4,01 \pm 0,59$   | $26 \pm 6$                   |
| 113           | $2,83 \pm 0,07$   | $35 \pm 2$                   |
| 114           | $3,30 \pm 0,20$   | $35 \pm 3$                   |
| 118           | $1,85 \pm 0,18$   | $35 \pm 7$                   |
| 119           | $1,01 \pm 0,06$   | $47 \pm 6$                   |
| 120           | $0,494 \pm 0,029$   | $62 \pm 5$                   |
| 124           | $> 20$  | n.e.*                        |
| 126           | $15,4 \pm 1,34$   | n.e.*                        |
| Cyclosporin A | $1,21 \pm 0,16$   | 100                          |

$I_{\text{max}}$  = Maximaler Effekt in Relation zum Standard Cyclosporin A (Cs A, 100 %)

n.e.\* = nicht ermittelbar, da topfixiert auf Cs A

\* Die Daten sind gemittelt aus mindestens drei unabhängigen Experimenten unter Angabe der Standardabweichung (SD).

In Verbindung mit der 3,4-Dimethoxy Substitution am Ring B des Chalkongrundgerüsts zeigten nahezu alle Vertreter eine gewisse Affinität zu ABCB1. Für Verbindungen mit einer maximalen ABCB1 Inhibition  $> 25\%$  wurden Dosis-Wirkungskurven generiert, um die  $IC_{50}$ -Werte (

Tabelle 4.3) zu bestimmen. Verbindung **120** zeigte die höchste inhibitorische Aktivität mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $0,494\ \mu\text{mol/l}$  und  $62\%$  maximale Inhibition, vergleichbar zur ermittelten ABCG2 Inhibition ( $IC_{50} = 0,573\ \mu\text{mol/l}$ ;  $\sim 100\%$ ). Damit fällt sie in die Kategorie der Dualinhibitoren. Eine repräsentative Dosis-Effekt Kurve ist in Abbildung 4.7 gegeben. Die Verbindung **100** zeigte mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $0,529\ \mu\text{mol/l}$  eine 3-fach höhere Hemmwirkung gegenüber ABCB1 als ABCG2 ( $IC_{50} = 1,74\ \mu\text{mol/l}$ ,  $100\%$  Inhibition), erreichte jedoch nur  $43\%$  maximale Inhibition. Ansonsten besteht keine signifikante Korrelation zwischen der Inhibition von ABCG2 und ABCB1 (Abbildung 4.8). Die vielversprechendsten ABCG2 Inhibitoren (**113**, **114**, **124**) aus dieser Serie der Acryloylphenylcarboxamide erreichten lediglich eine maximale Inhibition von  $\sim 35\%$  und gelten somit im submikromolaren Konzentrationsbereich als nahezu selektiv. In Bezug auf das Verhalten gegenüber dem Transporter ABCC1 war keine relevante Aktivität festzustellen.

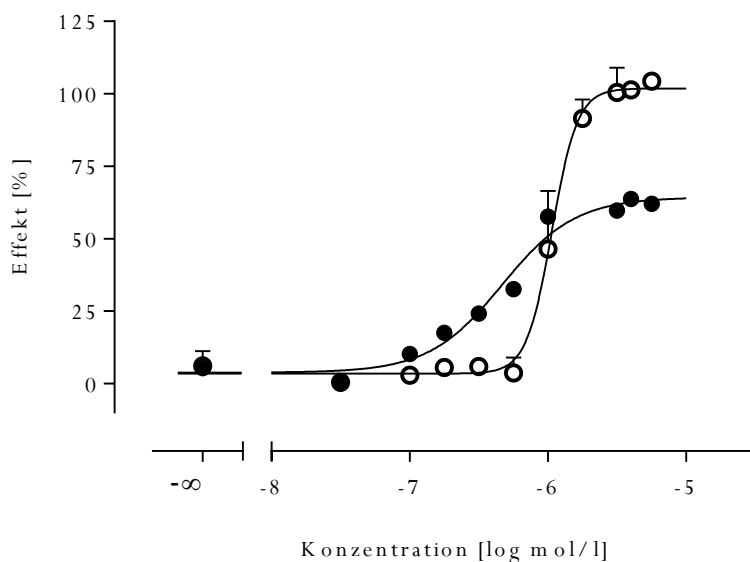


Abbildung 4.7: Dosis-Effekt Kurve der Verbindung **120** (gefüllte Kreise) im Vergleich zum Standard Cyclosporin A (nicht gefüllte Kreise) ermittelt im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zelllinie.

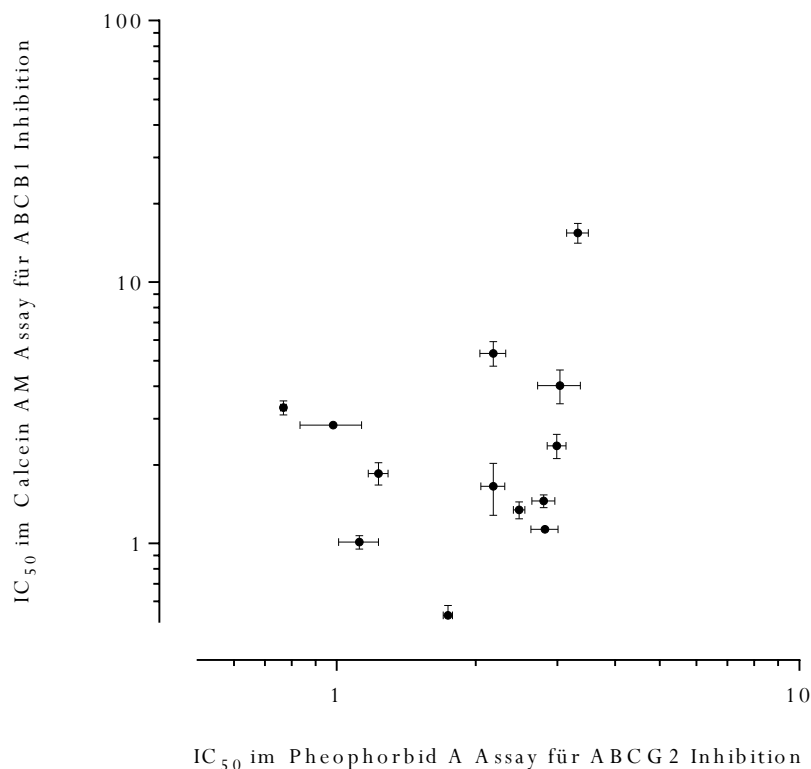


Abbildung 4.8: Scatterplot der  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{mol/l}$ ) ermittelt im Calcein AM Assay für die Inhibition von ABCB1 und im Pheophorbid A Assay für die Inhibition von ABCG2. Jedes Quadrat steht für den Mittelwert der  $IC_{50}$ -Werte ( $n \geq 3$ ) und die Fehlerbalken für die Standardabweichung.

#### 4.1.2.3 MTT Assay - Zytotoxizität und Aufhebung der MDR

Einige der vielversprechendsten Inhibitoren von ABCG2 wurden zur vollständigen Charakterisierung auf ihre intrinsische Zytotoxizität und die Fähigkeit die MDR aufzuheben, untersucht. Dies geschah mittels des MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen. Zur Ermittlung der  $GI_{50}$ -Werte wurden die Verbindungen für 72 Stunden bis zu einer Endkonzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  inkubiert und anschließend nach Behandlung mit dem Farbstoff MTT photometrisch vermessen. Die Tabelle 4.4 fasst die ermittelten  $GI_{50}$ -Werte aus beiden Zelllinien zusammen. Insbesondere die Verbindungen **96**, **100** und **118** zeigten eine erhöhte Toxizität mit  $GI_{50}$ -Werten kleiner 10  $\mu\text{mol/l}$ . Dennoch liegen die Konzentrationen um ein 8-faches höher als die ermittelten  $IC_{50}$ -Werte für die ABCG2 Inhibition. Des Weiteren lässt sich eine geringe Tendenz erahnen, dass die Verbindungen der *para*-Reihe (**96** und **100**) toxischer sind, als die der *ortho*-Reihe (ab **113**).

Hervorzuheben ist die Verbindung **124**, welche sich innerhalb der ersten Serie an Acryloylphenylcarboxamiden als vielversprechendste Verbindung herausstellte. Mit einem  $GI_{50}$  von 93  $\mu\text{mol/l}$  ist sie nicht toxisch, was wiederum die Möglichkeit weiterführender *in vivo* Untersuchungen begünstigt.

*Tabelle 4.4: Intrinsische Zytotoxizität ausgewählter Verbindungen gegenüber MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen ermittelt im MTT Assay.*

| Verbindung | MDCK II BCRP<br>$GI_{50} \pm SD$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II Wildtyp<br>$GI_{50} \pm SD$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* |
|------------|---|--|
| 96         | $7,08 \pm 1,01$   | $7,88 \pm 1,57$  |
| 100        | $8,69 \pm 1,99$   | $7,91 \pm 1,74$  |
| 113        | $20,5 \pm 3,10$   | $17,4 \pm 5,5$   |
| 114        | $17,8 \pm 1,0$  | $21,6 \pm 4,0$   |
| 118        | $8,29 \pm 0,73$   | $8,78 \pm 0,49$  |
| 120        | $65,9 \pm 12,0$   | $69,3 \pm 15,7$  |
| 124        | $93,2 \pm 10,6$   | $89,4 \pm 6,7$   |

\*  $n \geq 3$ , bis zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$

Um die Toxizität in Relation zu den Untersuchungen der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 zu stellen, ist in Abbildung 4.9 die Zellvitalität in Prozent nach 72 Stunden Inkubation bei einer Endkonzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  der ausgewählten Verbindungen dargestellt. Dies entspricht der maximalen Konzentration der Modulatoren im Pheophorbid A bzw. Hoechst 33342 Assay. Die Verbindungen **113**, **114**, **120** und **124** lassen deutlich erkennen, dass die Zellvitalität bei 10  $\mu\text{mol/l}$  über 75 % liegt. Dies ist insbesondere für die Derivate **113** und **114** interessant, da jene in den  $GI_{50}$ -Werten eine leicht erhöhte Toxizität aufwiesen. Im Gegensatz dazu spiegeln die normalisierten Ergebnisse für Verbindung **96**, **100** und **118** die ermittelten  $GI_{50}$ -Werte aus Tabelle 4.4 in einer ebenfalls stark verminderten Zellvitalität (> 50 % bei 10  $\mu\text{mol/l}$ ) wieder.

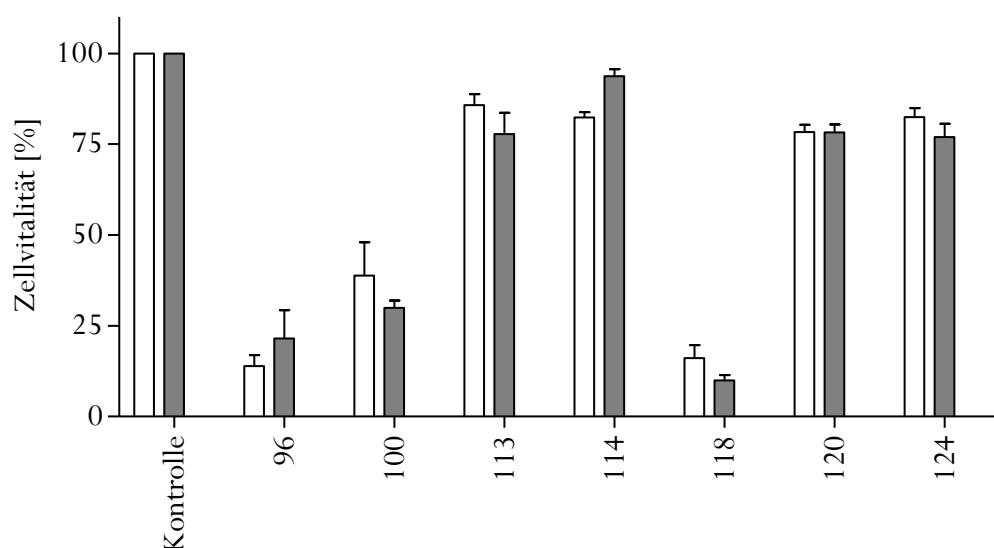


Abbildung 4.9: Balkendiagramm der Zytotoxizität ausgewählter Verbindungen ermittelt im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zellen (weiß) und MDCK II Wildtyp Zellen (dunkelgrau). Die Balken veranschaulichen die Zellvitalität in % bei einer fixierten Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  der Substanzen. Die Daten wurden aus mindestens 3 unabhängigen Experimenten bestimmt.

Zusätzlich wurde der MTT Assay zur Untersuchung der Fähigkeit die MDR aufzuheben herangezogen. Die entsprechenden Daten wurden in diesem Arbeitskreis durch Sebastian Köhler erhoben und der Assay wie bereits zuvor beschrieben mit kleineren Modifikationen durchgeführt [199]. Das Prinzip beruht auf einer konzentrationsabhängigen Verschiebung der Sensitivierung des ABCG2 Transporters gegenüber zytotoxischen Verbindungen. Dazu wurden MDCK II BCRP Zellen mit SN-38, dem aktiven Metaboliten des Zytostatikums Irinotecan, sowie einer definierten Konzentration des Inhibitors versetzt. Als Positivkontrolle dienten MDCK II Wildtyp Zellen ohne Modulator. Nach 72 Stunden Inkubationszeit und Zugabe des Farbstoffes MTT wurde die Zytotoxizität von SN-38 in Ab- bzw. Anwesenheit von 0,1 und 0,5  $\mu\text{mol/l}$  des Modulators vermessen. Die Abbildung 4.10 veranschaulicht die Konzentrations-Zellvitalitätskurve von SN-38 bei Zusatz des Modulators **124**. Die Pfeile veranschaulichen die Verschiebung der  $\text{GI}_{50}$ -Werte und zunehmende Sensitivierung von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38 hin zu dem Niveau von MDCK II Wildtyp Zellen mit steigender Konzentration des Inhibitors.

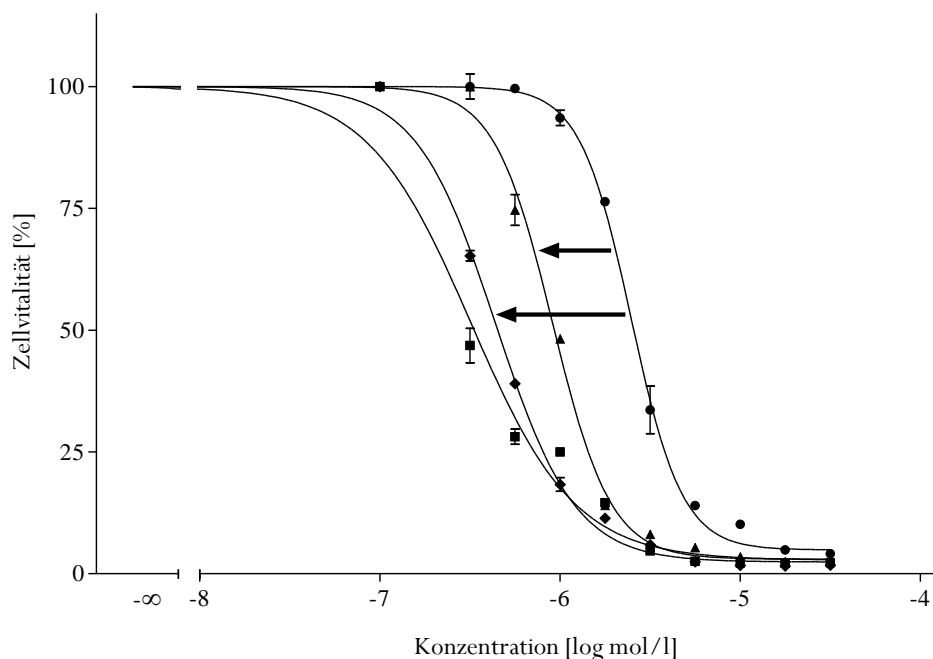


Abbildung 4.10: Repräsentative Verschiebung der Dosis-Effektkurve der SN-38 Zytotoxizität unter Einfluss des Inhibitors **124**. Die Pfeile veranschaulichen die konzentrationsabhängige Sensitivierung von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38. Der Effekt des Acryloylphenylcarboxamides wurde bei 0,1  $\mu\text{mol/l}$  (Dreieck) und 0,5  $\mu\text{mol/l}$  (Rhombus) untersucht. Zum Vergleich dienten ABCG2 überexprimierende MDCK II BCRP Zellen (Kreis) und MDCK II Wildtyp (Quadrat) mit SN-38 und ohne Zusatz des Inhibitors.

Die ermittelten  $\text{GI}_{50}$ -Werte von SN-38 liegen bei den MDCK II BCRP Zellen bei 2,48  $\mu\text{mol/l}$  und bei den Wildtyp Zellen im Bereich von 0,3  $\mu\text{mol/l}$ , was den erhöhten Resistenzgrad von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38 zeigt. In Anwesenheit der Verbindung **124** (0,5  $\mu\text{mol/l}$ ) konnte jene Resistenz nahezu vollständig aufgehoben werden. Dadurch ließ sich die Toxizität von SN-38 auf einen  $\text{GI}_{50}$ -Wert von 0,4  $\mu\text{mol/l}$  steigern. Zusammenfassend unterstreicht dies die Fähigkeit der Acryloylphenylcarboxamide die Multidrug-Resistenz zu überwinden.

### 4.1.3 Resümee der Acryloylphenylcarboxamide – Serie 1

In den vergangenen Jahrzehnten wurden verschiedenste Chalkon-Derivate synthetisiert und auf ihre pharmakologischen Wirkungen untersucht. Insbesondere im Hinblick auf die Entwicklung als ABCG2 Inhibitoren spielen Chalkone eine große Rolle. In dieser Arbeit wurde ein neuartiger Typ von Chalkon-Derivaten, die Acryloylphenylcarboxamide, entwickelt und auf ihr Verhalten gegenüber den ABC Transportern untersucht. Ziel der ersten Serie an Vertretern war die Ermittlung der bevorzugten Amidlinkerposition und des optimalen Substitutionsmusters.

Insgesamt wurden 36 Verbindungen synthetisiert, inklusive struktureller Modifikation in Position 2', 3' und 4' am Ring A (Amidlinker) und Position 3 und 4 am Ring B des Chalkons. Die Ergebnisse der biologischen Testung zeigten, dass sich die *ortho*-Substitution des Amidlinkers und 3,4-Dimethoxygruppen am Ring B des Chalkons positiv auf die inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 auswirken. Weiterhin steigerte ein unsubstituierter Phenylrest, 2-Thienyl, ebenso wie 3-Chlorphenyl die Aktivität. Die Verbindung **124** wurde als potentester Inhibitor identifiziert, bestehend aus 3,4-Dimethoxy-Substitution am Ring B des Chalkons, dem Amidlinker in *ortho*-Position und einem Thiophenring als Amidrest. Gegenüber den anderen beiden relevanten ABC Transportern ABCB1 und ABCC1 zeigte dieser Vertreter keine signifikante Aktivität. Im MTT Assay stellte sich die **124** dazu als nicht toxisch heraus.

Die erfassten pharmakologischen Daten der ersten Serie von Acryloylphenylcarboxamide und die daraus generierten Struktur-Wirkungs-Beziehungen dienten als Grundlage für die weitere Entwicklung und Optimierung dieser neuen Substanzklasse.

## 4.2 Methoxy-substituierte Acryloylphenylcarboxamide – Serie B

Aus der ersten Serie der Acryloylphenylcarboxamide konnten unter anderen drei wichtige Erkenntnisse über die Struktur-Wirkungs-Beziehung dieser neuartigen Klasse von ABCG2 Inhibitoren gewonnen werden, welche die Basis für weitere Optimierungen der Grundstruktur bildeten.

- Die *ortho*-Position des Amidlinkers am Ring A des Chalkons führte zu einer gesteigerten inhibitorischen Aktivität im Vergleich zu *para* oder *meta*.
- Eine Dimethoxy-Substitution am Ring B des Chalkons wirkt sich positiv auf die Aktivität dieser Inhibitoren aus. Jedoch erhöht dies auch teilweise die Affinität gegenüber ABCB1 und limitiert die Entwicklung selektiver Inhibitoren.
- Aus der entstandenen Substanzbibliothek kristallisierten sich die vielversprechendsten Reste für die Bildung des Amidlinkers heraus. Dazu zählten unter anderem 2-Thienyl, ein unsubstituierter Phenylring, sowie ein 3-Chlorphenylsubstituent.

Daraus ergaben sich die folgenden Ansatzpunkte für weiterführende Modifikationen der Leitstruktur:

1. Einführung einer zusätzlichen Methoxy-Substitution am Ring A des Chalkons zur Steigerung der Aktivität,
2. Erhöhung der Selektivität der Verbindungen gegenüber ABCG2,
3. Austausch der 3,4-Dimethoxygruppen durch 3,5-Dimethoxygruppen zur näheren Untersuchung des Einflusses der Substitution am Ring B.

### 4.2.1 Synthese der Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide

Die Darstellung der 4'-Methoxy- und 4',6'-Dimethoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide startete mit der Houben-Hoesch-Reaktion von 3-Anisidin bzw. 3,5-Anisidin nach der Vorlage von Jin et al. [211]. Diese Methode entspricht einer Friedel-Crafts-Acylierung mit Nitrilen und HCl und dient insbesondere der Acylierung elektronenreicher Aromaten. Dazu wurde zunächst im Kolben eine Lösung aus Bortrichlorid in Dichlormethan vorgelegt und mittels Eisbad auf 0 °C heruntergekühlt. Anschließend erfolgte die Zugabe des 3-Anisidin oder 3,5-Anisidin in 15 ml 1,2-Dichlorethan über einen Tropftrichter. Dies geschah über einen Zeitraum von ca. 30 Minuten, um die Temperatur konstant auf 0 °C zu halten. Zum Schluss wurde das Gemisch durch Zugabe von Aluminiumchlorid und Acetonitril vervollständigt und für 20 Stunden bei 80 °C refluxiert. Durch den Einsatz von Bortrichlorid in Kombination mit Aluminiumchlorid erfolgte die Reaktion am aromatischen Amin selektiv in *ortho*-Position. Der Reaktionsfortschritt wurde in regelmäßigen Abständen durch Dünnschichtchromatographie überprüft. Nach erfolgter Umsetzung wurde die Mixtur erneut auf 0 °C abgekühlt, mit 2 mol/l Salzsäure versetzt und nochmals für 30 Minuten bei 80 °C erhitzt. Durch die saure Hydrolyse bildete sich das gewünschte 4'-Methoxy-2'-Aminoacetophenon bzw. 4',6'-Dimethoxy-2'-Aminoacetophenon. Eine Extraktion des Ketons mit Dichlormethan und das Waschen mit 1 mol/l Natronlauge und einer gesättigten Natriumchloridlösung, sowie das anschließende Einengen des Lösungsmittels im Vakuum führten zur Isolierung des reinen Produktes. Das 4',5'-Dimethoxy-2'-Aminoacetophenon konnte käuflich erworben werden.

Die folgenden Schritte der Synthese gestalteten sich für alle Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide identisch. Das entsprechende Aminoacetophenon wurde mit 3,4- oder 3,5-Dimethoxybenzaldehyd in einer Claisen-Schmidt Kondensation zum Chalkon umgesetzt. Dies geschah unter Verwendung von wasserfreiem Lithiumhydroxid als Base und Methanol als Lösungsmittel bei Raumtemperatur über Nacht. Die entstandene Suspension wurde auf Eiswasser



gegeben und mit verdünnter Salzsäure versetzt, um die Ausbeute des Niederschlags zu erhöhen. Die Produkte konnten meist nach Filtration und ausgiebigem Waschvorgang mit Wasser als Reinstoffe gewonnen werden. Bei Anwesenheit von Verunreinigungen wurde eine Umkristallisation mit einem Ethanol-Wasser Gemisch (1:1) durchgeführt.

Im finalen Schritt der Darstellung kam es zur Ausbildung des Amidlinkers. Dazu erfolgte die Umsetzung der Aminochalkone mit verschiedenen substituierten Säurechloriden in Tetrahydrofuran. Die Bildung der Carbonsäureamide verlief basenkatalysiert durch die Zugabe von Triethylamin. Nach Beendigung der Reaktion wurde zunächst das entstandene Triethylammoniumchlorid abfiltriert und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt. Der meist ölige Rückstand wurde in wenig Ethanol aufgenommen, zum Sieden erhitzt und das Produkt durch Heißfiltration abgetrennt. In Abbildung 4.11 sind die Syntheserouten aller Methoxy-substituierten Varianten graphisch aufgezeigt.

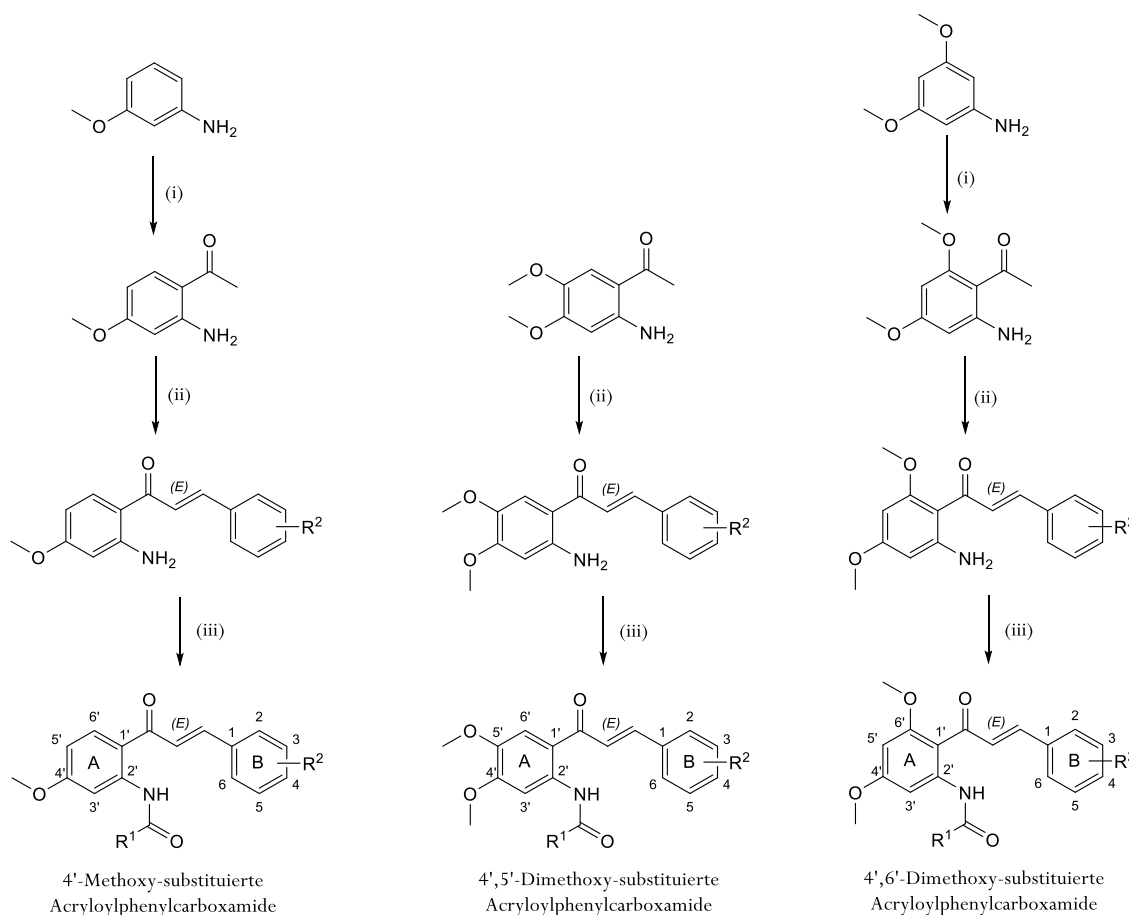


Abbildung 4.11: Syntheschema der 4'-Methoxy-substituierten (links), 4',5'-Dimethoxy-substituierten (Mitte) und 4',6'-Dimethoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide (rechts): (i) a)  $BCl_3$ ,  $AlCl_3$ , ACN, DCM, 0 °C, anschließend Reflux bei 80 °C für 20 h, b) bei 0 °C 2N HCl zugeben, Rühren bei 80 °C für 30 min; (ii) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Ultraschallbad; (iii) verschieden substituierte Säurechloride, Triethylamin, THF, RT, 12 h.

## 4.2.2 Biologische Testung der Acryloylphenylcarboxamide – Serie B

### 4.2.2.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

In der Serie der Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide entstanden während der Entwicklungsphase 24 Derivate, welche überwiegend mittels Hoechst 33342 Assay auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 untersucht wurden. Für einige der vielversprechendsten Verbindungen erfolgte zusätzlich die Ermittlung der  $IC_{50}$ -Werte im Pheophorbid A Assay, um Rückschlüsse auf eventuell vorliegende Substratspezifität ziehen zu können. Beide Assays wurden mit der ABCG2 überexprimierenden MDCK II BCRP Zelllinie durchgeführt. Als Standard diente der bekannte ABCG2 Inhibitor Ko143. Die bestimmten  $IC_{50}$ -Werte beider Assays sind in den Tabelle 4.5 und Tabelle 4.6 zusammengefasst.

Entsprechend ihres Substitutionsmusters ergaben sich drei unterschiedliche Gruppen von Derivaten.

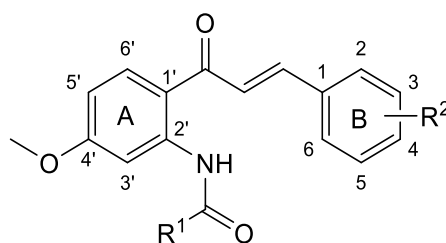
Die erste Gruppe (**129-140**) umfasst alle 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide, welche am Ring B des Chalkons eine 3,4-Dimethoxysubstitution tragen und sich durch variierte Reste am Amidlinker unterscheiden. Als potentester Vertreter dieser Serie erwies sich die Verbindung **129**, welche am Rest 1 mit einem Phenylring substituiert ist und einen  $IC_{50}$ -Wert von 0,219  $\mu\text{mol/l}$  im Hoechst 33342 Assay erzielte. Damit stellte sie innerhalb aller synthetisierten Acryloylphenylcarboxamide den effektivsten ABCG2 Inhibitor dar. Die Halogen-substituierten Verbindungen **130** (3-Chlorphenyl) und **132** (3-Bromphenyl) konnten aufgrund der schlechten Löslichkeit nicht auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 untersucht werden. Befand sich jedoch der Chlorrest in Position 2 des Phenylringes (**131**) konnte eine sehr gute Aktivität von 0,660  $\mu\text{mol/l}$  erzielt werden. Nahezu vergleichbare  $IC_{50}$ -Werte zur Verbindung **129** erreichten die Derivate **133** ( $IC_{50} = 0,285 \mu\text{mol/l}$ ), substituiert mit 2-Methoxy-Phenyl und **136** ( $IC_{50} = 0,320 \mu\text{mol/l}$ ), substituiert mit einem Thienylrest. Als ein Vertreter der fünfgliedrigen Heterozyklen zeigte Thiophen bereits in der vergangenen Serie an Acryloylphenylcarboxamide einen positiven Einfluss auf die inhibitorische Aktivität. Daraufhin wurde untersucht, ob dies im Schwefel begründet liegt und welchen Einfluss der Austausch gegen Sauerstoff bzw. ein zusätzlicher Stickstoff ausübt. Zur Überprüfung wurden die Derivate **139** (Furanylrest,  $IC_{50} = 0,714 \mu\text{mol/l}$ ) und **140** (Thiazolylrest,  $IC_{50} = 1,01 \mu\text{mol/l}$ ) synthetisiert. Beide zeigten im Hoechst 33342 Assay eine herabgesetzte Aktivität im Vergleich zum Thiophen. Damit wurde in diesem Fall gezeigt, dass der Schwefel an sich einen positiven Beitrag zur Hemmung von ABCG2 liefert. Die Einführung eines Stickstoffatoms im Phenylring vermag insbesondere die Löslichkeit von Wirkstoffen zu

verbessern. Jedoch gelang es nicht mit den Pyridylvertretern **134** ( $IC_{50} = 1,17 \mu\text{mol/l}$ ) und **135** ( $IC_{50} = 1,36 \mu\text{mol/l}$ ) die inhibitorische Potenz eines unsubstituierten Phenylringes zu erreichen. Im Gegenteil, die Aktivität verschlechterte sich um ein 6-faches.

Zusammenfassend übte die Einführung einer Methoxysubstitution am Ring A des Chalkons einen positiven Effekt auf die inhibitorische Aktivität der Acryloylphenylcarboxamide aus. Dies lässt darauf schließen, dass die 4'-Methoxy-Substitution ein wichtiger Bestandteil der Grundstruktur ist.

In der zweiten Gruppe von 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamiden erfolgte ein Austausch der 3,4-Dimethoxygruppen am Ring B gegen 3,5-Dimethoxygruppen. Wie bereits im Kapitel 4.1.2.1 gezeigt wurde, korreliert die Aktivität von Chalkon-Derivaten mit dem Substitutionsmuster am Ring B. Genauer gesagt steht sie eng in Zusammenhang mit einer Mehrfach-Methoxysubstitution. Es wurden insgesamt fünf Derivate (**141-145**), substituiert mit den besten Amidresten, synthetisiert und auf ihre Affinität gegenüber ABCG2 untersucht. Im Falle des Phenylrestes (**141**:  $IC_{50} = 0,292 \mu\text{mol/l}$ ) und des 2-Methoxy-Phenylrestes (**142**:  $IC_{50} = 0,595 \mu\text{mol/l}$ ) zeigte sich eine leichte Verschlechterung der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zur ersten Gruppe. Eine Ausnahme bildete die Verbindung **143**, welche am Rest 1 einen 2-Chlorphenylring trägt. Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $0,358 \mu\text{mol/l}$  ist sie um ein 2-faches potenter als das Pendant **131** mit einem  $IC_{50}$  von  $0,660 \mu\text{mol/l}$ . Hervorzuheben sind vor allem die Derivate **144** (Thienylrest,  $IC_{50} = 0,268$ ) und **145** (1-Naphthylrest,  $IC_{50} = 0,359 \mu\text{mol/l}$ ), deren Aktivität durch die 3,5-Dimethoxysubstitution ebenfalls gesteigert werden konnte. Jedoch zeigten beide eine Reduzierung der maximalen Inhibition von ABCG2 auf 60-70 % im Vergleich zum Standard Ko143 (100%). Dennoch bildeten sie ein eigenes Plateau aus und sind somit nicht auf den Standard topfixiert. Zusammenfassend zeigte die Veränderung der Dimethoxysubstitution am Ring B zwiespältige Ergebnisse. Teilweise führte sie zur Steigerung der Hemmwirkung gegenüber ABCG2 und teilweise führte sie zur Verschlechterung. In der Summe zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der 3,4- und 3,5-Dimethoxysubstitution. Nichtsdestotrotz war es nicht möglich eine Verbesserung zur Verbindung **129** zu erzielen und einen Zusatznutzen festzustellen.

Tabelle 4.5: Inhibitorische Aktivität der 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide gegenüber ABCG2. Die  $IC_{50}$ -Werte wurden mittels des Hoechst 33342 und teilweise des Pheophorbid A Assays ( $n \geq 3$ ) unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie bestimmt. Als Standard diente Ko143.



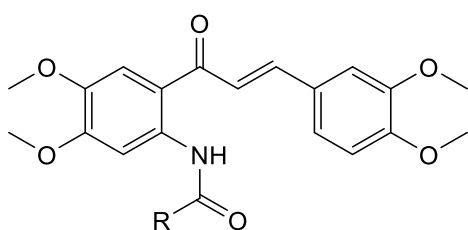
129-145

| Verb. | R <sup>1</sup>             | R <sup>2</sup>       | Hoechst 33342<br>Assay<br>$IC_{50} \pm SD$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] | Pheophorbid A<br>Assay<br>$IC_{50} \pm SD$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] |
|-------|----------------------------|----------------------|---|---|
| 129   | Phenyl                     | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,219 $\pm$ 0,033   | 0,215 $\pm$ 0,033   |
| 130   | 3-Cl-phenyl                | 3,4-OCH <sub>3</sub> | n.e. <sup>a</sup>   | n.e. <sup>a</sup>   |
| 131   | 2-Cl-phenyl                | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,660 $\pm$ 0,088   | n.e.  |
| 132   | 3-Br-phenyl                | 3,4-OCH <sub>3</sub> | n.e. <sup>a</sup>   | n.e. <sup>a</sup>   |
| 133   | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,285 $\pm$ 0,033   | 0,448 $\pm$ 0,033   |
| 134   | 3-Pyridyl                  | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,17 $\pm$ 0,05   | n.e.  |
| 135   | 2-Pyridyl                  | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,36 $\pm$ 0,16   | n.e.  |
| 136   | 1-Naphthyl                 | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,422 $\pm$ 0,083   | n.e.  |
| 137   | 3-Chinoliny                | 3,4-OCH <sub>3</sub> | n.e. <sup>a</sup>   | n.e. <sup>a</sup>   |
| 138   | Thienyl                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,320 $\pm$ 0,032   | 0,513 $\pm$ 0,024   |
| 139   | Furanyl                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,714 $\pm$ 0,061   | n.e.  |
| 140   | Thiazolyl                  | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,01 $\pm$ 0,13   | n.e.  |
| 141   | Phenyl                     | 3,5-OCH <sub>3</sub> | 0,292 $\pm$ 0,030   | 0,327 $\pm$ 0,045   |
| 142   | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,5-OCH <sub>3</sub> | 0,595 $\pm$ 0,062   | 0,634 $\pm$ 0,024   |
| 143   | 2-Cl-phenyl                | 3,5-OCH <sub>3</sub> | 0,358 $\pm$ 0,025   | 0,458 $\pm$ 0,036   |
| 144   | Thienyl                    | 3,5-OCH <sub>3</sub> | 0,268 $\pm$ 0,058 <sup>b</sup>                                      | n.e.  |
| 145   | 1-Naphthyl                 | 3,5-OCH <sub>3</sub> | 0,359 $\pm$ 0,076 <sup>b</sup>                                      | n.e.  |
| Ko143 |                            |                      | 0,221 $\pm$ 0,024   | 0,276 $\pm$ 0,040   |

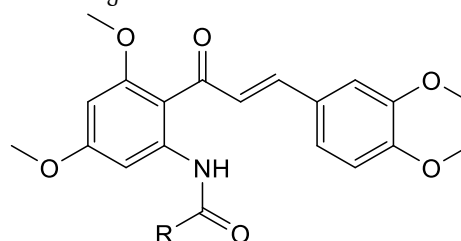
n.e. = nicht ermittelt im Pheophorbid A Assay. n.e.<sup>a</sup> = nicht ermittelbar aufgrund schlechter Löslichkeit. <sup>b</sup> = maximale Inhibition reduziert auf 60-70 % im Vergleich zu Ko143 (100%).

Die dritte Gruppe (**146–152**) an Derivaten umfasst die 4',5'- und 4',6'-Dimethoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide. Es wurden sieben Vertreter synthetisiert, um den Einfluss einer zweiten Methoxysubstitution am Ring A des Chalkons zu evaluieren. Die Auswahl der Reste am Amidlinker beschränkte sich dabei auf die vielversprechendsten der vorherigen Gruppe. Verbindung **146** (Phenylrest:  $IC_{50} = 0,754 \mu\text{mol/l}$ ) und **147** (2-Methoxyphenylrest:  $IC_{50} = 0,832 \mu\text{mol/l}$ ) erreichten gute inhibitorische Aktivitäten, aber im Vergleich zu ihrem jeweiligen Pendant (4'-Methoxy-substituierte Derivate) war ein eindeutiger Aktivitätsverlust zu verzeichnen. Die Verbindung **148** konnte aufgrund der schlechten Löslichkeit nicht auf ihre Hemmwirkung gegenüber ABCG2 untersucht werden. Für die 4',6'-Dimethoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide ergab sich ein ähnliches Bild der inhibitorischen Aktivität der Verbindungen gegenüber ABCG2. Weiterhin konnte kein signifikanter Unterschied in den  $IC_{50}$ -Werten zwischen 4',5'- und 4',6'-Dimethoxy ermittelt werden. Zusammenfassend trug die zusätzlich Methoxysubstitution in Position 5' oder 6' nicht zu einer Verbesserung der Hemmwirkung gegenüber ABCG2 bei.

Tabelle 4.6: Inhibitorische Aktivität der 4',5'- und 4',6'-Dimethoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide ermittelt im Hoechst 33342 Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie.



146-148



149-152

| Verbindung | R                          | Hoechst 33342 Assay<br>$IC_{50} \pm SD [\mu\text{mol/l}]^*$ |
|------------|----------------------------|---|
| 146        | Phenyl                     | $0,754 \pm 0,105$   |
| 147        | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl | $0,832 \pm 0,111$   |
| 148        | Thienyl                    | n.e. <sup>a</sup>   |
| 149        | Phenyl                     | $0,739 \pm 0,149$   |
| 150        | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl | $0,814 \pm 0,074$   |
| 151        | Thienyl                    | $2,34 \pm 0,37^b$   |
| 152        | 1-Naphthyl                 | n.e. <sup>a</sup>   |

n.e.<sup>a</sup> = nicht ermittelbar aufgrund schlechter Löslichkeit. <sup>b</sup> = maximale Inhibition reduziert auf  $56 \pm 10 \%$  im Vergleich zu Ko143 (100 %).

\* Die Bestimmung erfolgte aus mindestens 3 unabhängigen Experimenten.

Alles umfassend lieferten diese Studien unterstützende Hinweise in der Optimierung der Acryloylphenylcarboxamide als potente ABCG2 Inhibitoren. Es konnten folgende neue Strukturelemente ermittelt werden:

- Eine Dimethoxysubstitution am Ring B des Chalkons ist ein wichtiges Strukturelement für erhöhte Aktivität gegenüber ABCG2.
- Die 4'-Methoxy-Substitution am Ring A des Chalkons steigerte das inhibitorische Potential.
- Insbesondere die Substitution des Amidlinkers durch Phenyl, Thiophen oder 2-Methoxyphenyl erzielte die besten  $IC_{50}$ -Werte und damit die potentesten ABCG2 Inhibitoren.

### 4.2.2.2 Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1

In der Weiterentwicklung bzw. Optimierungsphase der Acryloylphenylcarboxamide spielte insbesondere die Erhöhung der Selektivität gegenüber ABCG2 eine erhebliche Rolle. In diesem Zuge erfolgte die Untersuchung der synthetisierten Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide im Calcein AM Assay auf ihre Hemmwirkung gegenüber ABCB1 und ABCC1. Dazu wurden ABCB1 überexprimierende A2780adr und ABCC1 überexprimierende H69AR Zellen verwendet.

Aus den vorherigen Daten ist bereits bekannt, dass Methoxygruppen zu einer Erhöhung der Affinität gegenüber ABCB1 führen. Innerhalb der zweiten Serie an Derivaten wurde nochmals durch Einfügen von Methoxygruppen am Ring A des Chalkons die Anzahl gesteigert. Jedoch war bisher nicht eindeutig geklärt, ob die Position dieser Methoxygruppen entscheidend ist.

Die Abbildung 4.12 (ABCB1 Screening) und Abbildung 4.13 (ABCC1 Screening) verdeutlichen in Form eines Balkendiagramms den maximalen prozentualen Effekt der Verbindungen, bezogen auf den Standard (Cs A, 100%), welcher gegenüber den jeweiligen Transportern bei einer fixierten Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  erreicht wurde.

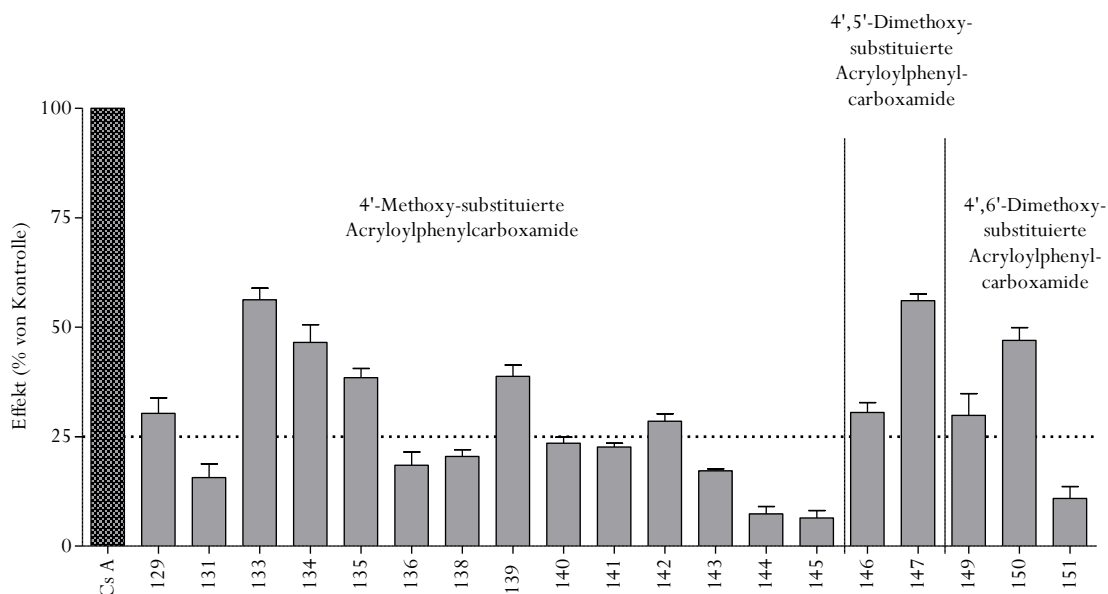


Abbildung 4.12: Screening der Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zelllinie bei einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$ . Der Effekt ist gegeben in Prozent, bezogen auf die Kontrollsubstanz Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition), und wurde aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.

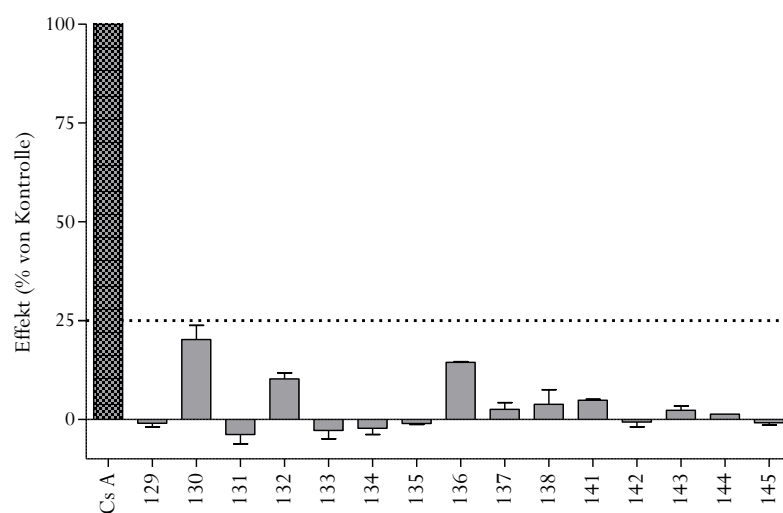


Abbildung 4.13: Screening ausgewählter 4'-Methoxy-substituierter Acryloylphenylcarboxamide im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCC1 überexprimierenden H69AR Zelllinie bei einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$ . Der Effekt ist gegeben in Prozent, bezogen auf die Kontrollsubstanz Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition), und wurde aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.

Wie zu erwarten, zeigten auch die 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide keine nennenswerten ABCC1-Interaktion. Im Falle von ABCB1 war eine deutliche Reduktion der Affinität zu beobachten. Nahezu alle 4'-Methoxy-substituierten Derivate lagen unterhalb der 25 % Marke und sind im submikromolaren Konzentrationsbereich als inaktiv zu betrachten. Hervorzuheben sind die Verbindungen **133**, **134** und **135**, welche eine erhöhte Aktivität aufwiesen und daraufhin durch Aufnahme von Dosis-Wirkungskurven auf ihre IC<sub>50</sub>-Werte (Tabelle 4.7) näher untersucht wurden. Bei der Verbindung **133** handelt es sich um einen zusätzlich am Rest des Amidlinkers mit Methoxy substituierten Vertreter und bei den Derivaten **134** und **135** um die Pyridinylvertreter. Die maximale Inhibition der Verbindungen im Vergleich zum Standard Cyclosporin A (100% Inhibition) lag unterhalb von 60 %. Dennoch bildeten sie ein eigenes Plateau, das bedeutet sie wurden somit nicht auf den Top von Cyclosporin A gefittet. Der niedrigste IC<sub>50</sub>-Wert ergab sich für das Derivat **142** mit 0,250 µmol/l. Jedoch lag gleichzeitig die maximal erreichbare Inhibition bei nur 29 %.

*Tabelle 4.7: Inhibitorischer Effekt ausgewählter Verbindungen im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zelllinie.*

| Verbindung    | Calcein AM Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD [µmol/l]* | I <sub>max</sub> ± SD [%]* |
|---------------|---|----------------------------|
| 129           | 1,13 ± 0,10   | 32 ± 9                     |
| 133           | 0,848 ± 0,130                                       | 58 ± 5                     |
| 134           | 1,37 ± 0,10   | 41 ± 2                     |
| 135           | 0,777 ± 0,066                                       | 35 ± 2                     |
| 139           | 1,64 ± 0,26   | 39 ± 6                     |
| 142           | 0,250 ± 0,032                                       | 29 ± 4                     |
| 146           | 3,51 ± 0,44   | 31 ± 4                     |
| 147           | 1,42 ± 0,05   | 57 ± 6                     |
| 150           | 1,06 ± 0,18   | 49 ± 5                     |
| Cyclosporin A | 1,21 ± 0,16   | 100                        |

*I<sub>max</sub>* = maximale Inhibition in Relation zum Standard Cyclosporin A (100 %)

\* Die Daten wurden aus mindestens 3 unabhängigen Experimenten ermittelt.



Für die 4',5'-Dimethoxy-substituierten Vertretern **146** (Phenylrest) und **147** (2-Methoxyphenylrest) wurde kein signifikanter Anstieg der Affinität im Gegensatz zu den

4'-Methoxy-substituierten Analoga festgestellt. Dies gilt ebenfalls für die 4',6'-Dimethoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide **149** und **150**.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass eine zusätzliche Methoxysubstitution am Ring A des Chalkons nicht zwangsläufig zu einer erhöhten ABCB1 Affinität führt. Lediglich bei weiterer Erhöhung der Anzahl an Methoxygruppen verteilt über die Grundstruktur zeigte sich ein gesteigertes Potential auch ABCB1 zu inhibieren.

#### 4.2.2.3 MTT Assay - Zytotoxizität und Aufhebung der MDR

Die Durchführung des MTT Assays erfolgte für ausgewählte Verbindungen unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie. Die ermittelten  $GI_{50}$ -Werte der intrinsischen Zytotoxizität sind in Tabelle 4.8 zusammengefasst und im Vergleich zur inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 dargestellt.

*Tabelle 4.8: Intrinsische Zytotoxizität ausgewählter 4'-Methoxy-substituierter Acryloylphenylcarboxamide bestimmt im MTT Assay unter Verwendung von MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen. Zum direkten Vergleich sind die im Hoechst 33342 Assay ermittelten  $IC_{50}$ -Werte aufgeführt.*

| Verbindung | Hoechst 33342 Assay $IC_{50}$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II BCRP $GI_{50} \pm SD$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II Wildtyp $GI_{50} \pm SD$ [ $\mu\text{mol/l}$ ]* |
|------------|--|--|---|
| 129        | 0,219  | $78,3 \pm 9,3$                                       | $79,7 \pm 9,3$  |
| 133        | 0,285  | $21,2 \pm 3,7$                                       | $18,1 \pm 2,5$  |
| 138        | 0,320  | $21,0 \pm 2,4$                                       | $17,5 \pm 2,2$  |
| 141        | 0,292  | $22,5 \pm 3,9$                                       | $16,8 \pm 2,9$  |
| 144        | 0,268  | $18,4 \pm 3,0$                                       | $17,6 \pm 2,1$  |

\*  $n \geq 3$ , bis zu einer Konzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$

Alle ausgewählten Vertreter der 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide zeigten eine moderate Zytotoxizität. Die Verbindungen **133**, **138**, **141** und **144** ergaben jeweils einen  $GI_{50}$ -Wert um die 20  $\mu\text{mol/l}$ , was in Relation zu den bestimmten Aktivitäten im Hoechst 33342 Assay in etwa 75-fach höher lag. Hervorzuheben ist der Inhibitor **129**, der potenteste und vielversprechendste innerhalb aller Acryloylphenylcarboxamide. Mit einem  $GI_{50}$  von 78  $\mu\text{mol/l}$  zeigte er kaum intrinsische Zytotoxizität und könnte somit ein Kandidat für weitere *in vivo* Studien werden.

Um einen Vergleich der Zytotoxizität zu den übrigen zellbasierten Assays zu ziehen, veranschaulicht Abbildung 4.14 die prozentuale Zellvitalität bei einer fixierten Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  des Inhibitors. Deutlich erkennbar war, dass alle Verbindungen eine Zellvitalität über 50 % aufwiesen. Für **141** und **144** ließ sich eine ähnliche Tendenz des Anstieges der Toxizität erkennen, was den ermittelten  $GI_{50}$ -Daten entspricht. Dahingegen zeigten die Derivate **129**, **133** und **138** nur eine geringfügige Veränderung der Zellvitalität.

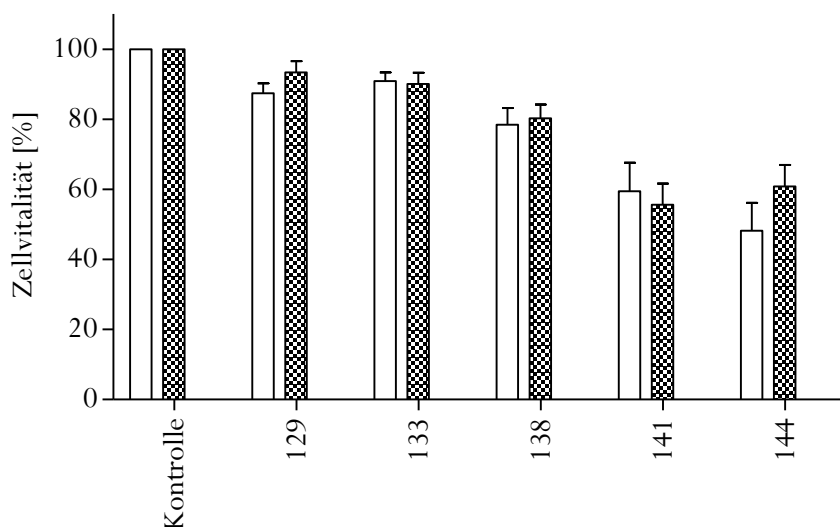


Abbildung 4.14: Balkendiagramm der ermittelten Zellvitalität (%) ausgewählter Verbindungen im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie. Gegeben sind die gemittelten prozentualen Werte der Zellvitalität bei einer fixierten Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  des Inhibitors (aus  $\geq 3$  unabhängige Experimenten).

Die Untersuchung zur Aufhebung der Resistenz der MDCK II BCRP Zellen gegenüber dem Zytostatikum SN-38 erfolgte innerhalb dieses Arbeitskreises durch Sebastian Köhler und wurde wie bereits zuvor beschrieben mit kleineren Modifikationen durchgeführt [199]. Exemplarisch wurde

hier die Verbindung **129**, als potentester Vertreter der Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide für den MTT Assay ausgewählt. Die Abbildung 4.15 veranschaulicht graphisch den Shift der Zytotoxizitätskurven von SN-38 von den resistenten MDCK II BCRP Zellen hin zu den MDCK II Wildtyp Zellen durch den Zusatz unterschiedlicher Inhibitorkonzentrationen. Bereits bei  $0,1 \mu\text{mol/l}$  des Modulators ist eine Sensitivierung der MDCK II BCRP Zellen gegenüber der Zytotoxizität von SN-38 zu beobachten und  $0,5 \mu\text{mol/l}$  heben die Resistenz nahezu vollständig auf. Zusammenfassend verdeutlichen die Ergebnisse das Potential der 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide die Multidrug-Resistenz zu überwinden.

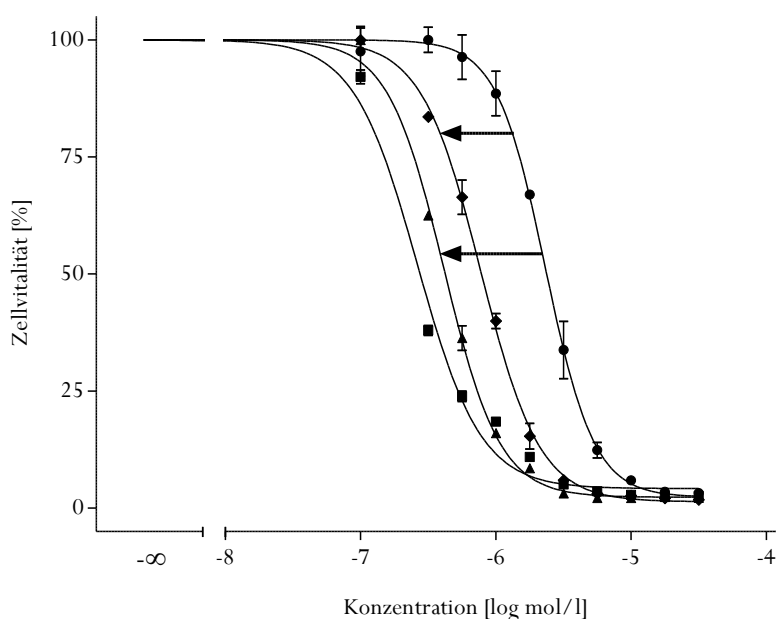


Abbildung 4.15: Repräsentative Verschiebung der Dosis-Effektkurve der SN-38 Zytotoxizität unter Einfluss des Inhibitors **129**. Die Pfeile veranschaulichen die konzentrationsabhängige Sensitivierung von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38. Der Effekt des Acryloylphenylcarboxamides wurde bei  $0,1 \mu\text{mol/l}$  (Rhombus) und  $0,5 \mu\text{mol/l}$  (Dreieck) untersucht. Zum Vergleich dienten die ABCG2 überexprimierenden MDCK II BCRP (Kreis) und MDCK II Wildtyp Zellen (Quadrat) mit SN-38 und ohne Zusatz des Inhibitors.

Neben der Verbindung **129** wurden drei weitere vielversprechende Derivate auf ihre Fähigkeit die MDR aufzuheben untersucht. Anhand der generierten Dosis-Effekt Kurven konnte die intrinsische Zytotoxizität ( $\text{GI}_{50}$  [ $\mu\text{mol/l}$ ]) von SN-38 gegenüber der ABCG2 überexprimierenden MDCK II Zelllinie abgeleitet werden. Die entsprechenden  $\text{GI}_{50}$ -Daten sind in Tabelle 3.9 zusammengestellt. Zur Überprüfung der Ergebnisse wurden die Daten der MDCK II BCRP und MDCK

II Wildtyp Zelllinie ohne Zusatz des Inhibitors jeweils gemittelt. Die geringe Standardabweichung verweist auf eine gute Reproduzierbarkeit der Daten.

Tabelle 4.9: Sensitivierung der MDCK II BCRP Zelllinie gegenüber dem Zytostatikum SN-38 durch Zugabe ausgewählter Inhibitoren in verschiedenen Konzentrationen (0,1 und 0,5  $\mu\text{mol/l}$ ).

| Verb.       | MDCK II<br>BCRP<br>$\text{GI}_{50} \pm \text{SD}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II BCRP<br>+ 0,1 $\mu\text{mol/l}$<br>Inhibitor<br>$\text{GI}_{50} \pm \text{SD}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II BCRP<br>+ 0,5 $\mu\text{mol/l}$<br>Inhibitor<br>$\text{GI}_{50} \pm \text{SD}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II<br>Wildtyp<br>$\text{GI}_{50} \pm \text{SD}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* |
|-------------|---|--|--|--|
| 129         | $2.45 \pm 0.24$   | $0.732 \pm 0.043$  | $0.356 \pm 0.055$  | $0.209 \pm 0.028$  |
| 133         | $2.52 \pm 0.34$   | $1.01 \pm 0.13$  | $0.428 \pm 0.059$  | $0.211 \pm 0.034$  |
| 138         | $2.88 \pm 0.41$   | $0.684 \pm 0.104$  | $0.352 \pm 0.035$  | $0.215 \pm 0.032$  |
| 144         | $2.37 \pm 0.31$   | $0.586 \pm 0.092$  | $0.376 \pm 0.015$  | $0.225 \pm 0.042$  |
| MW $\pm$ SD | $2.56 \pm 0.23$   |  |  | $0.215 \pm 0.007$  |

\* Die Daten wurden in mindestens drei unabhängigen Experimenten bestimmt.

### 4.2.3 Resümee der Acryloylphenylcarboxamide – Serie 2

Innerhalb der ersten Serie von Acryloylphenylcarboxamiden konnten bereits die Grundbausteine der Leitstruktur ermittelt werden. Dazu zählen das Vorhandensein des Amidlinkers in *ortho*-Position und eine Mehrfachsubstitution mit Methoxygruppen am Ring B des Chalkons. Weiterhin war es möglich, die Vielzahl an Variationen des Restes 1 einzugrenzen als Basis für zukünftige Entwicklungen. Um das Potential der Verbindungen im Optimierungsprozess zu steigern, wurde am Ring A des Chalkons eine Methoxygruppe in Position 4' eingeführt. Dies führte überwiegend zu einer Erhöhung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2. Es stellte sich ebenfalls heraus, dass die 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide sich, bis auf wenige Ausnahmen, im submikromolaren Konzentrationsbereich selektiv gegenüber ABCG2 verhielten. Lediglich die Pyridin-Vertreter **134** und **135**, sowie die zusätzlich mit einer weiteren Methoxygruppe substituierte Verbindung **133** zeigten eine erhöhte Affinität zu ABCB1. Die Verbindung **129** erwies sich als vielversprechendster Kandidat für weiterführende biologische Untersuchungen, mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 0,219  $\mu\text{mol/l}$ . Sie zeigte keine signifikante Affinität zu ABCB1 und ABCC1 und war nicht zytotoxisch im MTT Assay. Außerdem konnte die Aufhebung der Resistenz von

SN-38 gegenüber MDCK II BCRP Zellen nachgewiesen werden. Eine 4',5'- oder 4',6'-Dimethoxy-Substitution am Ring A ging mit einer verminderten Aktivität einher und wurde somit nicht weiterverfolgt. Zusammenfassend kristallisierten sich die 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide als hochpotente Klasse von neuen ABCG2 Inhibitoren heraus.

### 4.3 ATPase Assay der Acryloylphenylcarboxamide

Zur weiteren Charakterisierung der Acryloylphenylcarboxamide und zum näheren Verständnis der Interaktion mit ABCG2 wurden ausgewählte Verbindungen auf ihren Einfluss auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität von ABCG2 untersucht. Die Durchführung des Assays erfolgte in diesem Arbeitskreis durch Katja Stefan wie bereits zuvor beschrieben [212]. Anhand der Abbildung 4.16 wird verdeutlicht, dass alle Verbindungen die ATPase über das Maß der basalen Aktivität stimulieren. Betrachtet man die strukturellen Unterschiede zwischen den fünf Gruppen von Acryloylphenylcarboxamiden, lässt sich eine Abhängigkeit der Stimulation von der Position der Methoxygruppen ableiten. Die Gruppen 1 (113-124) und 2 (129-138) unterscheiden sich lediglich durch die An- bzw. Abwesenheit der 4'-Methoxy-Substitution am Ring A des Chalkons. Dies scheint keine merkliche Auswirkung auf die Intensität der ATPase Aktivität zu haben. Bei Gruppe 3 (141 und 144) ist die 4'-Methoxysubstitution ebenfalls vorhanden, aber die Dimethoxygruppen am Ring B befinden sich nicht in der 3,4- sondern 3,5-Position. Dadurch wurde eine Stimulation über das Maß von Quercetin, einem bekannten ATPase Aktivator, erreicht. Letztlich sei noch Gruppe 4 (146/147) und 5 (149-151) erwähnt, welche die 4',5'- bzw. 4',6'-Dimethoxy-Substitution am Ring A tragen und sich von ihrer Aktivität zwischen Gruppe 2 und 4 einordnen. Zusammenfassend verweisen die Daten auf eine strukturell abhängige Beeinflussung der ATPase Aktivität an ABCG2 von der Position der Methoxygruppen. Nichtsdestotrotz liefert eine gesteigerte Hydrolyse von ATP keinen Rückschluss auf eine erhöhte Transportleistung von ABCG2. Anhand des MTT Assays zur Untersuchung der Zytotoxizität in MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen konnte nachgewiesen werden, dass ein Transport der Acryloylphenylcarboxamide ausgeschlossen ist. Wäre dem nicht so, hätten sich unterschiedliche  $GI_{50}$ -Werte in beiden Zelllinien abgezeichnet. Die Stimulierung der ATPase ist möglicherweise auf die Bindestelle bzw. den Wirkmechanismus der ABCG2 Inhibitoren zurückzuführen. Jedoch ist dieser Mechanismus zum jetzigen Zeitpunkt nicht geklärt. Fest steht, dass die Inhibition von ABCG2 nicht unmittelbar mit der Hemmung der ATPase Aktivität einhergeht und somit die jeweiligen Assays getrennt voneinander zu betrachten sind.

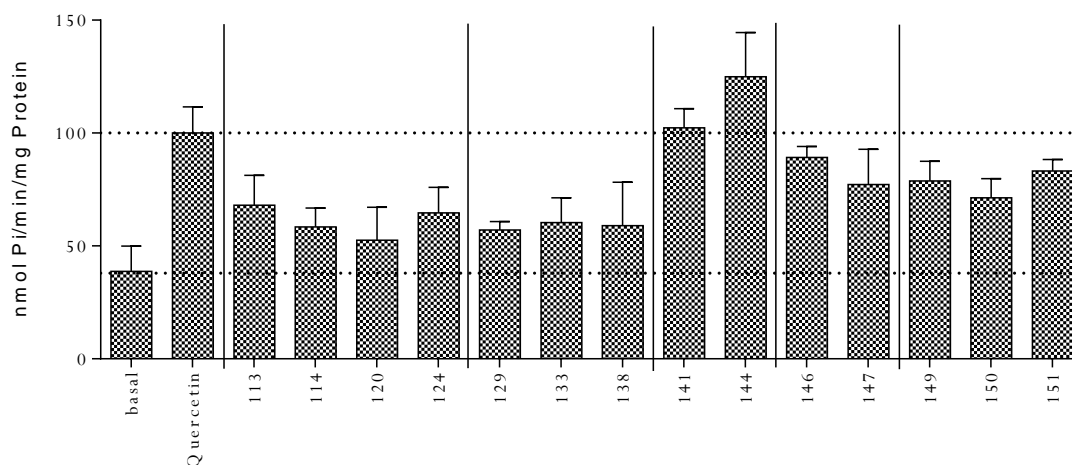


Abbildung 4.16: Effekt ausgewählter Acryloylphenylcarboxamide auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität in isolierten ABCG2-enhaltenden Sf9-Membranen bei einer Konzentration von  $1\mu\text{mol/l}$ . Die Daten wurden gemittelt aus mindestens drei unabhängigen Experimenten.

## 4.4 Acryloylphenylcarboxylate

Im Laufe der Entwicklungsphase der Acryloylphenylcarboxamide stellte sich die Frage nach der Notwendigkeit bzw. nach dem Ausmaß des Einflusses der Amidfunktion. Zur Untersuchung dieser Thematik wurden insgesamt sechs Vertreter der Acryloylphenylcarboxylate (Abbildung 4.17) synthetisiert und ihre Hemmwirkung gegenüber den ABC Transportern bestimmt. Strukturell unterscheiden sie sich nur durch den Austausch der Amidfunktion gegen eine Esterfunktion.

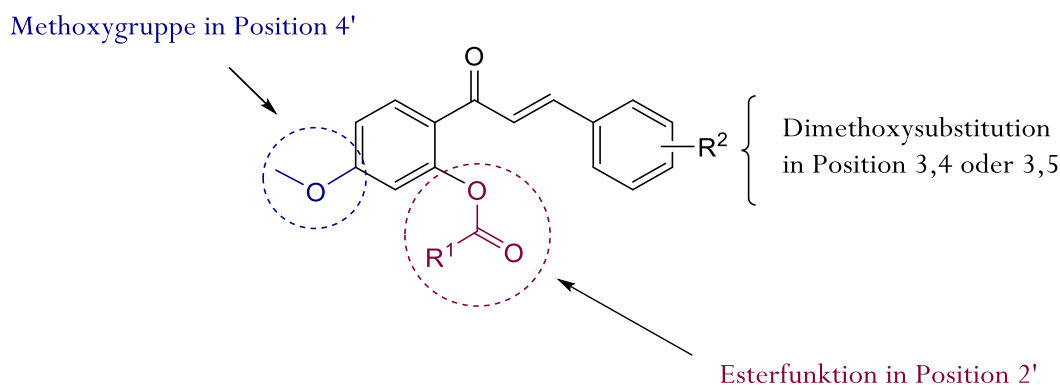


Abbildung 4.17: Grundstruktur der Acryloylphenylcarboxylate

### 4.4.1 Synthese der Acryloylphenylcarboxylate

Die Darstellung der Acryloylphenylcarboxylate (Abbildung 4.18) ging von 2'-Hydroxy-4'-Methoxyacetophenon aus, welches im ersten Schritt mit verschiedenen substituierten Benzaldehyden zum entsprechenden Chalkon kondensiert wurde. Zur Begünstigung der Reaktion wurde wasserfreies Lithiumhydroxid als Basenkatalysator eingesetzt. Durch den Entzug von Wasser wurde das Gleichgewicht der reversiblen Reaktion verschoben und die Entstehung des Chalkons begünstigt. Des Weiteren konnte die Umsetzungsgeschwindigkeit durch Verwendung eines Ultraschallbades um ein Vielfaches gesteigert werden.

Anschließend erfolgte eine basenkatalysierte Veresterung nach der Schotten-Baumann-Methode, wobei die freie Hydroxyfunktion in Position 2' durch Zugabe unterschiedlich substituierter Säurechloride acetyliert wurde. Nach ca. 12 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde das ausgefallene Triethylammoniumchlorid abfiltriert und die nun klare Flüssigkeit im Vakuum eingedunstet. Der meist ölige Rückstand wurde in wenig Ethanol aufgenommen und aus selbigem umkristallisiert.

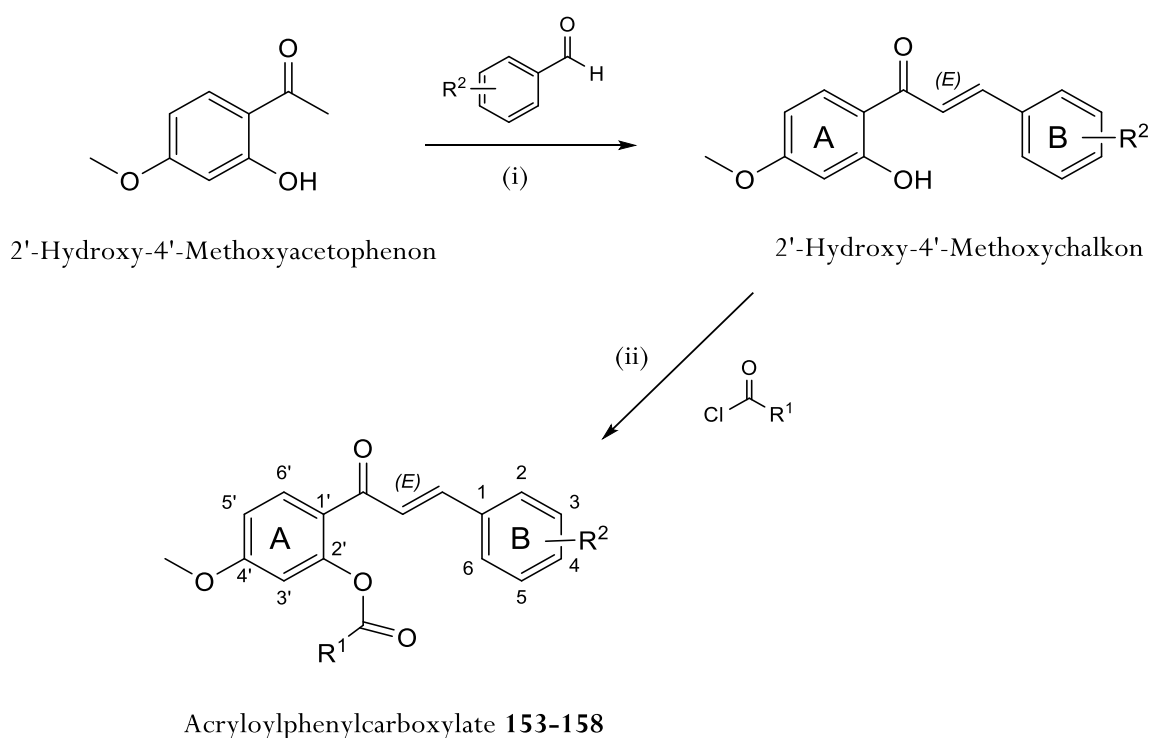


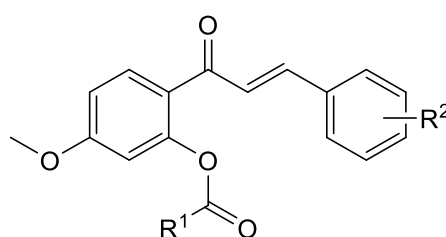
Abbildung 4.18: Syntheschema der Acryloylphenylcarboxylate: (i) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Ultraschallbad, 4-5h; (ii) verschieden substituierte Säurechloride, Triethylamin, THF, RT, 12 h.

## 4.4.2 Biologische Testung der Acryloylphenylcarboxylate

### 4.4.2.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

Zur Ermittlung der inhibitorischen Aktivität der synthetisierten Acryloylphenylcarboxylate wurden diese im Hoechst 33342 Assay an ABCG2 überexprimierenden MDCK II BCRP Zellen untersucht. Die ermittelten  $IC_{50}$ -Werte und ihre Standardabweichungen (SD) sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst. Als Standard diente der umfangreich untersuchte ABCG2 Inhibitor Ko143.

*Tabelle 4.10: Inhibitorischer Effekt der Acryloylphenylcarboxylate im Hoechst33342 Assay unter Verwendung der ABCG2 überexprimierenden MDCK II BCRP Zelllinie sowie eine Gegenüberstellung mit den entsprechenden  $IC_{50}$ -Werten der Amid Analoga. Ko143 diente als Standard.*



153-158

| Verb. | R <sup>1</sup>             | R <sup>2</sup>       | Hoechst 33342<br>Assay $IC_{50} \pm SD$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* | Amid<br>Analogon | Hoechst<br>33342<br>Assay $IC_{50}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* |
|-------|----------------------------|----------------------|---|------------------|---|
| 153   | Phenyl                     | 3,4-OCH <sub>3</sub> | $0,879 \pm 0,125$   | 129              | 0,219   |
| 154   | Thienyl                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> | $2,08 \pm 0,35$   | 138              | 0,320   |
| 155   | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub> | $1,44 \pm 0,17$   | 133              | 0,285   |
| 156   | Phenyl                     | 3,5-OCH <sub>3</sub> | $1,09 \pm 0,20$   | 141              | 0,292   |
| 157   | Thienyl                    | 3,5-OCH <sub>3</sub> | $0,865 \pm 0,169$   | 144              | 0,268   |
| 158   | 2-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,5-OCH <sub>3</sub> | $1,70 \pm 0,21$   | 142              | 0,595   |
| Ko143 |                            |                      | $0,221 \pm 0,024$   |                  |   |

\* Die  $IC_{50}$ -Werte wurden aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.

Eingeteilt wurden die Derivate in zwei Serien, wobei sich jede einzelne aus drei Verbindungen zusammensetzt. Die Serie 1 (**153-155**) trägt als Rest 2 eine 3,4-Dimethoxysubstitution und Serie 2 (**156-158**) eine 3,5-Dimethoxysubstitution. Zum Vergleich wurden für den Rest 1 die drei jeweils besten Substituenten in Bezug auf die Acryloylphenylcarboxamide gewählt.



In den jeweiligen inhibitorischen Aktivitäten der Derivate unterscheiden sich die Serien untereinander nicht signifikant (Ausnahme: **154** vs. **157**). Der Vergleich zwischen den Acryloylphenylcarboxylaten zu den entsprechenden Carboxamid Analoga zeigte 3-6-fach schlechtere  $IC_{50}$ -Werte der Esterverbindungen, was den positiven Effekt der Amidfunktion auf die inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 verweist. Des Weiteren zeigt sich eine ähnliche Prioritätenreihenfolge der Substituenten der jeweiligen Serie zu den Amid Analoga. In der 3,4-Dimethoxy Serie wurde für den Phenylrest (**153**:  $IC_{50} = 0,879 \mu\text{mol/l}$ ) der höchste Effekt ermittelt gefolgt vom 2-Methoxy-Phenylrest (**155**:  $IC_{50} = 1,44 \mu\text{mol/l}$ ) und letztlich dem Thiophenrest (**154**:  $IC_{50} = 2,08 \mu\text{mol/l}$ ). Innerhalb der 3,5-Dimethoxy Serie stellte sich für die Thienyl (**157**) Verbindung die potenteste Hemmwirkung ein, gefolgt von Phenyl und 2-Methoxyphenyl.

#### 4.4.2.2 Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1

Die synthetisierten Derivate (**153-158**) wurden ebenfalls im Calcein AM Assay an ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen und ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen hinsichtlich ihrer Hemmwirkung untersucht. Als Standard diente Cyclosporin A, ein bekannter Inhibitor bei der ABC Transporter. Zunächst erfolgte ein Screening der Substanzen bei einer fixierten Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$ . Die ermittelten Daten wurden normalisiert und sind in Prozent bezogen auf den Standard (Cs A,  $10 \mu\text{mol/l}$ , 100 % Inhibition) gegeben.

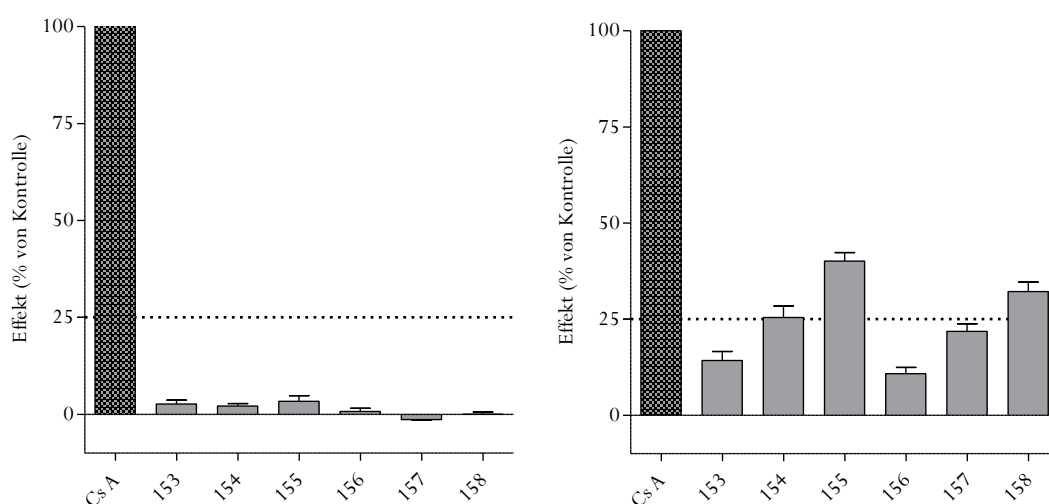


Abbildung 4.19: Screening der Acryloylphenylcarboxylate an ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen (Abb. Links) und ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen (Abb. Rechts) im Calcein AM Assay bei einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$ . Die Effekte sind in Prozent gegeben, bezogen auf den Standard Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition) und aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.

Die Abbildung 4.19 illustriert den inhibitorischen Effekt der Acryloylphenylcarboxylate gegenüber beiden Transportern (Links: ABCC1-, Rechts: ABCB1-Inhibition). Zusammenfassend konnte verdeutlicht werden, dass diese keine Affinität zu ABCC1 und nur eine geringfügige Affinität zu ABCB1 zeigten. Der erhöhte Effekt war durch die zusätzliche Methoxygruppe am Rest 1 zu erklären. Dafür steht beispielhaft die Verbindung **155** mit einer maximalen Inhibition von ABCB1 bei etwa 40 %. Daraufhin wurde zur näheren Charakterisierung der inhibitorischen Aktivität eine Dosis-Wirkungskurve generiert. Es ergab sich dabei ein ermittelter  $IC_{50}$ -Wert von  $2,24 \mu\text{mol/l} \pm 0,32$ . Trotz genannter Ausnahme sind die Acryloylphenylcarboxylate als nahezu selektive Inhibitoren von ABCG2 zu klassifizieren.

#### 4.4.3 Konformationsanalyse der Verbindungen 129 und 153

Zur näheren Untersuchung des Aktivitätsverlustes der Acryloylphenylcarboxylate gegenüber den entsprechenden Amid Analoga wurde von Prof. Dr. Wiese eine Konformationsanalyse der Verbindungen **129** und **153** mit MOE 2014.09 unter Verwendung des MMFF94x Kraftfeldes durchgeführt [213]. Dazu wurden die entsprechenden Strukturen erstellt und eine lokale Energieminimierung berechnet. Anschließend erfolgte die Konformationsanalyse unter Verwendung des Low-Mode-Molecular-Dynamic Algorithmus mit Standardeinstellungen. Die zehn energetisch günstigsten Konformationen wurden visuell überprüft und zeigten jeweils in beiden Fällen sehr ähnliche Übereinstimmung. Für alle Konformationen (niedrigster Energien) des Derivates **129** wurde stets eine planare Ausrichtung der Carbonyl- und Amidgruppe erhalten (siehe Abbildung 3.20 A), welche durch eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert wird. Im Falle der Verbindung **153** kommt es durch elektrostatische Abstoßung zu einer V-förmigen Konformation des Esters (siehe Abbildung 3.20 B).

Die Existenz einer planaren Struktur wird häufig als förderliches Strukturelement von ABCG2 Inhibitoren in Bezug auf die Bindung und inhibierende Funktion gegenüber des Transportproteins angesehen [214,215].

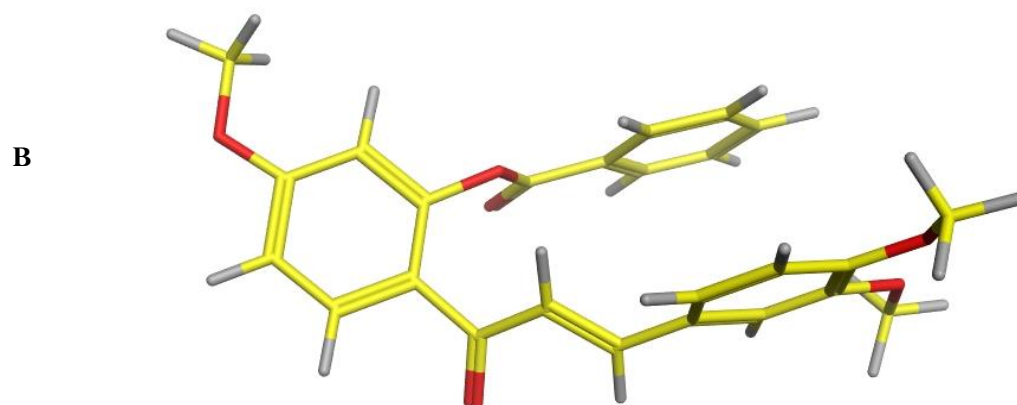
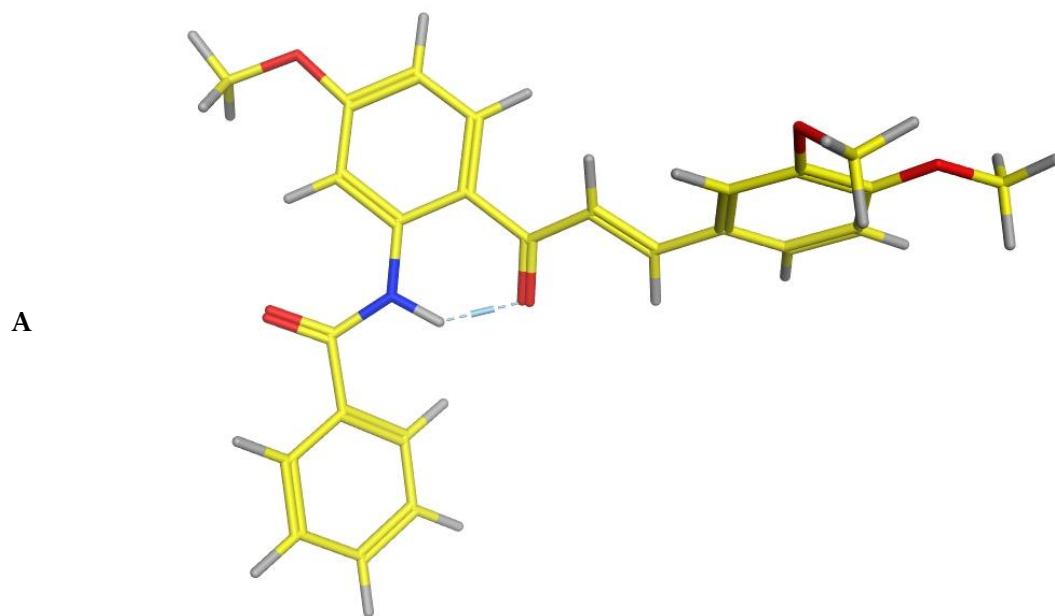


Abbildung 4.20: Konformation der Verbindung 129 mit Amidfunktion (A) und 153 mit Esterfunktion (B). Sauerstoffatome sind Rot, Stickstoffatome Blau, Wasserstoffatome Hellgrau und Kohlenstoffatome Gelb eingefärbt.

#### 4.4.4 Resümee der Acryloylphenylcarboxylate

Die Acryloylphenylcarboxylate sind in die Kategorie der selektiven und moderat potenten ABCG2 Inhibitoren einzuordnen. Dennoch zeigten sie im direkten Vergleich zu den Acryloylphenylcarboxamiden eine verminderte inhibitorische Aktivität. Ein exemplarischer Vergleich findet sich in Abbildung 4.21 wieder. Die Verbindung **129**, welche einen Amidlinker innerhalb der Struktur trägt, zeigte eine 5-fach höhere Aktivität gegenüber ABCG2 als Verbindung **153** mit Esterfunktion. Dieser Effekt resultiert höchstwahrscheinlich aus dem Verlust der Donor-Akzeptorfunktion, welche die Amidgruppe beisteuert. Beim Ester liegt lediglich eine Akzeptorfunktion vor. Weiterhin zeigte sich anhand der Konformationsanalyse eine unterschiedliche räumliche Ausrichtung der beiden Verbindungen. Der Verlust der nahezu planaren Ausrichtung der Carbonyl- und Amidgruppe, könnte einen weiteren Grund für die verminderte Aktivität der Ester-Derivate darstellen. Dies unterstreicht den bevorzugten Einbau des Amidlinkers in die Leitstruktur und den positiven Effekt auf die inhibitorische Aktivität.

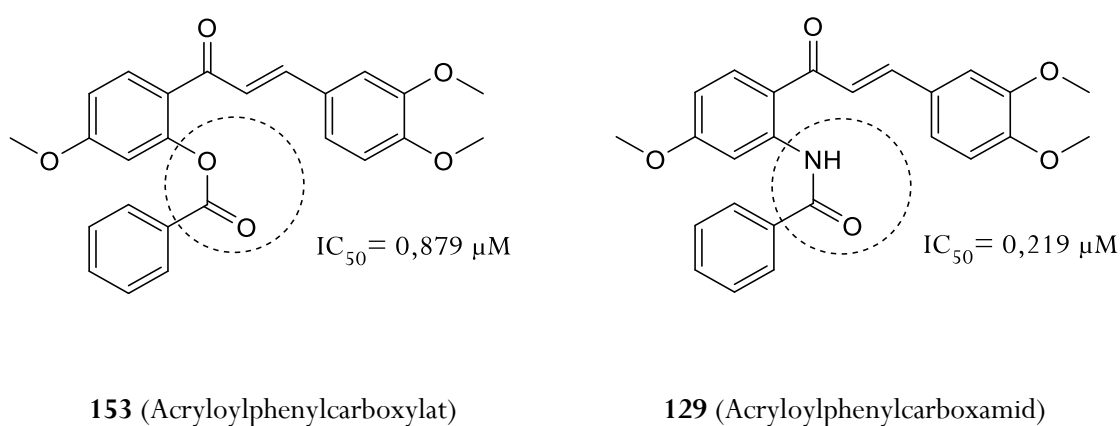


Abbildung 4.21: Gegenüberstellung der Acryloylphenylcarboxylate zu den Acryloylphenylcarboxamiden. Die Verbindungen **153** und **129** unterscheiden sich lediglich in der Linkerfunktion und dienen somit exemplarisch für den Vergleich beider Substanzklassen.

## 5 Projekt III: Chinazolin-Chalkone

### 5.1 Chinazolin-Chalkone: Ein Überblick

Chinazoline zählen zur Klasse der Heterozyklen und setzen sich aus einem Benzolring und einem daran anellierten Pyrimidinring zusammen und sind auch unter dem Namen Benzo-1,3-diazine bekannt. Im Jahre 1869 erfolgte die Synthese des ersten Derivates (2-Cyano-3,4-dihydro-4-oxochinazoline) durch Griess, aber erst 1903 schaffte es Gabriel eine effizientere Syntheseroute zu entwickeln [216]. Die Bezeichnung Chinazolin beruht auf der Isomerie zu Cinnolin und Chinoxalin.

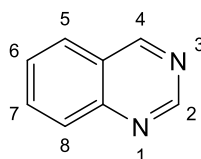


Abbildung 5.1: Allgemeine Struktur der Chinazoline.

Strukturell findet sich das Chinazolin in einer Vielzahl von Verbindungen als zentraler Bestandteil wieder und aufgrund der breitgefächerten Substitutionsmöglichkeiten ergibt sich ein vielseitiges pharmakologisches Wirkspektrum [217]. Zu den biologischen Aktivitäten zählen unter anderem sedative [218,219], antimalarische [220–222], analgetische [223,224] und antihypertensive [225,226] sowie antitumorale [227–230] Eigenschaften. Innerhalb der letzten Jahre erfuhren die Chinazoline einen immensen Anstieg an wissenschaftlichem Interesse und wurden damit zu einem wichtigen Bestandteil der Forschungen im Bereich der Medizinischen Chemie.

In Bezug auf diese Arbeit ist insbesondere der Einfluss von Chinazolin-Derivaten auf die ABC Transporter von Bedeutung. Einige Verbindungen zeigten sowohl Substrat- als auch Inhibitor-Eigenschaften. So gilt unter anderem Prazosin [231–233], ein auf dem Markt befindlicher  $\alpha$ -Adrenozeptorantagonist zur Behandlung arterieller Hypertonie, als ein Substrat von ABCG2 und wird auch im geringeren Ausmaß von ABCB1 transportiert. Als bekanntester Vertreter der ABCG2 Modulatoren ist Gefitinib (Iressa, AstraZeneca) zu nennen, welches zur Klasse der

Tyrosin-Kinase-Inhibitoren gehört. Gefitinib hemmt überwiegend die Tyrosinkinasen der EGFR-Familie (*Epidermal Growth Factor Receptor*), was wiederum zur Verlangsamung des Tumorwachstums und auch zur Tumorregression führt [234,235]. Der inhibitorische Effekt von Gefitinib auf ABCG2 wurde 2004 durch Yanase et al. [236] gezeigt und in dieser Arbeitsgruppe durch Anne Pick bestätigt [237]. Die Strukturen von Prazosin und Gefitinib sind in Abbildung 5.2 gegeben.

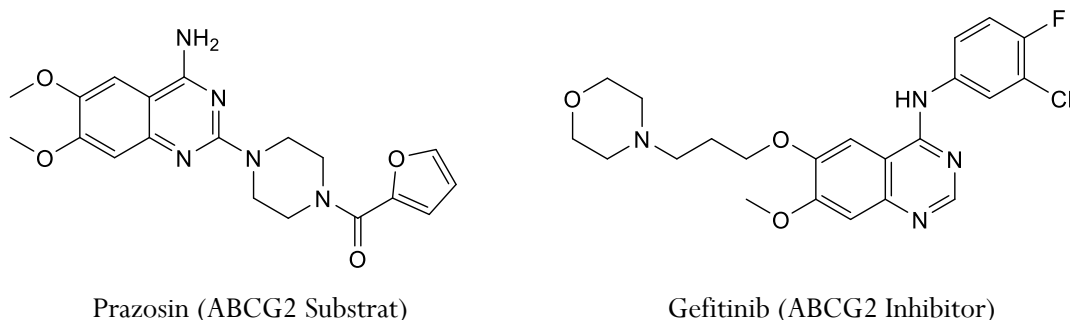


Abbildung 5.2: Struktur von Prazosin und Gefitinib mit Chinazolingerüst.

Des Weiteren entwickelte Kapil Juvele in unserem Arbeitskreis eine Reihe von neuen Chinazolin-Derivaten als ABCG2 Inhibitoren [184,198]. Dafür modifizierte er das Grundgerüst überwiegend an Position 2 und 4 (Abbildung 5.3). Die synthetisierten Verbindungen zeigten ein hohes Potential ABCG2 zu hemmen und erreichten zum Teil  $IC_{50}$ -Werte im nanomolaren Bereich.

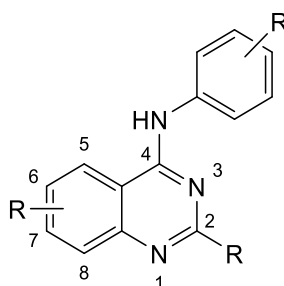


Abbildung 5.3: Grundstruktur der Chinazolin-Derivate entwickelt durch Kapil Juvele [184].

Die Entwicklung von Chalkonen und deren Derivaten als ABCG2 Inhibitoren zeigte die Möglichkeit die MDR *in vitro* aufzuheben. Chalkone stellen eine Klasse potenter Modulatoren dar mit  $IC_{50}$ -Werten im niedrigen mikromolaren Bereich. Eine der aktivsten Verbindungen wurde in diesem Arbeitskreis von Kapil Juvele entwickelt und repräsentiert mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 0,53  $\mu\text{mol/l}$  im Hoechst 33342 Akkumulationsassay jenes Potential dieser Stoffklasse [167].

Im Jahr 2014 entwickelte Winter et al. [168] eine Serie von Chinoxalin-substituierten Chalkonen als neue Inhibitoren von ABCG2. Dafür ersetzten sie den Ring B des Chalkons unter anderem mit einem Chinoxalinrest und variierten den Ring A ausschließlich mit Methoxygruppen. Zusammenfassend demonstrierten sie durch ihre Studien den positiven Effekt von heterozyklischen Komponenten im Chalkongrundgerüst und die Notwendigkeit von Methoxysubstitution in Bezug auf die Inhibition. Des Weiteren verwiesen sie darauf, dass Chalkone einen Phenyl-B-Ring, substituiert mit Methoxygruppen, tragen und am Ring A variiert werden sollten, insbesondere mit größeren bzw. heterozyklischen Bausteinen. Basierend auf diesen Erkenntnissen sollte eine Steigerung in der inhibitorischen Aktivität zu erwarten sein.

Ziel dieses Projektes war es neue Verbindungen, basierend auf der Kombination aus Chalkonen und Chinazolin, zu designen und zu synthetisieren. Frühere Studien zeigten den Vorteil verknüpfter Homodimere als Modulatoren von ABCB1, wodurch die inhibitorische Aktivität im Vergleich zu den Monomeren gesteigert werden konnte [238,239]. So entwickelten Namanja et al. [240] ein Galantamindimer (Gal-2), welches den ABCB1 Efflux mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 0,8  $\mu\text{mol/l}$  hemmt, während das Monomer bis zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  keinerlei Einfluss auf den Transporter zeigte.

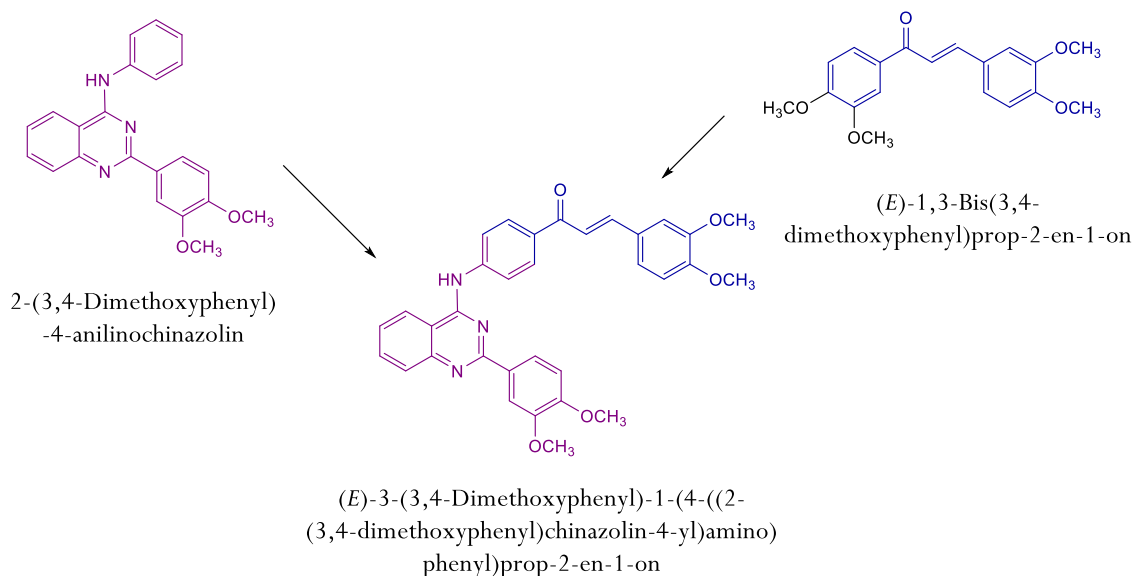


Abbildung 5.4: Darstellung der Verknüpfung zweier Leitstrukturen zum Heterodimer, dem Chinazolin-Chalkon.

Verknüpft man die Tatsachen miteinander, dass aus inaktiven Monomeren aktive Dimere entstehen können und sowohl Chinazoline als auch Chalkone potente Modulatoren darstellen, resultiert daraus eine begründete Entwicklung und Untersuchung von Heterodimeren. Die Abbildung 5.4

soll das Prinzip hinter der Dimerisierung zweier unterschiedlicher Grundstrukturen verdeutlichen. Das Projekt wurde von Kapil Juvele übernommen, welcher selbst 2 Endstufen synthetisierte. Des Weiteren erfolgte die Gestaltung dieses Projektes in enger Zusammenarbeit mit Katja Stefan, welche für die Durchführung der gesamten biologischen Testung zuständig war. Die erhobenen Daten der ersten Serie an Chinazolin-Chalkonen wurden bereits veröffentlicht [212].

## 5.2 Synthese der Chinazolin-Chalkone

Die Darstellung der Chinazoline-Chalkone erfolgte auf zwei unterschiedlichen Syntheserouten, abhängig von der Substitution des Chinazolin-Grundgerüsts in Position 2. Diese lassen sich in jeweils 4 Stufen untergliedern. Beim Aufbau des Chinazolin-Grundgerüsts handelt es sich um eine nach Juvele et al. [184] modifizierte Niementowski Reaktion [241].

Verbindungen ohne Substitution in Position 2 wurden nach der Methode A (Abbildung 5.5) wie folgt synthetisiert.

Stufe 1 – Synthese der Chinazolinone: Ausgehend von Anthranilsäure bzw. 2-Amino-4,5-dimethoxybenzoesäure bildete sich unter Zusatz eines Überschusses an Formamid das entsprechende Chinazolinon. Das Reagens Formamid diente gleichzeitig als Reaktionspartner und Lösungsmittel. Das Gemisch wurde über 15 Stunden bei 150 °C bis zur vollständigen Umsetzung erhitzt und im Anschluss durch Zugabe von Wasser gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit viel Wasser gewaschen und anschließend getrocknet.

Stufe 2 – Umwandlung der Chinazolinone zu 4-Chlorochinazolin: Mittels Phosphorylchlorid wurden die Chinazolinone einer Chlorierung am Carbonylkohlenstoff unter Wasserabspaltung unterzogen. Dazu wurden die Vorstufen mit einem Überschuss an Phosphorylchlorid ( $\text{POCl}_3$ ) versetzt und etwa 9 Stunden bei 70-90 °C erhitzt. Durch das vorsichtige Schütten des Reaktionsgemisches auf Eiswasser in Kombination mit Neutralisation unter Verwendung von Ammoniak fiel das Produkt aus. Die 4-Chlorochinazoline wurden nach dem Absaugen und Waschen mit Wasser ohne zusätzliche Aufreinigung weiter umgesetzt.

Stufe 3 – Darstellung der 4-Aminochinazoline: Durch Aminierung der 4-Chlorochinazoline mit 3'- oder 4'-Aminoacetophenon konnte die Gestaltung des Chinazolingrundgerüsts abgeschlossen und der Aufbau zum Chalkon vorbereitet werden. Die Kopplung über das Amin



erfolgte in Isopropanol über 3-4 Stunden unter Rückfluss. Während der Reaktion bildete sich in der zuvor klaren Lösung ein Niederschlag des Produktes aus, welcher durch Heißfiltration abgetrennt wurde. Die isolierten Zwischenstufen bedurfte in einigen Fällen einer Umkristallisation aus Ethanol.

Stufe 4 – Darstellung der Chinazolin-Chalkone: Im letzten Schritt erfolgte eine Claisen-Schmidt Kondensation zwischen dem Acetylrest des Chinazolines und unterschiedlich substituierten Benzaldehyden. Zur Formung der Chalkone wurden zunächst die gängigen Reaktionsbedingungen ausprobiert, unter Verwendung von LiOH als Basenkatalysator und Methanol als Lösungsmittel. Sowohl das Rühren bei Raumtemperatur, als auch die Umsetzung im Ultraschallbad erzielten nicht die gewünschten Produkte, aufgrund von erheblich verlängerter Reaktionszeit hin zu mehreren Tagen und unzureichender Umsetzung der Reaktionspartner. Zur Verkürzung der Zeit und zum vollständigeren Verbrauch der eingesetzten Edukte kam es zum Einsatz der Mikrowelle (120 W, 100 °C) und die Produkte konnten innerhalb eines Zeitfensters von 30-40 min synthetisiert werden. Schlussendlich wurden die Chinazolin-Chalkone durch Umkristallisation oder Säulenchromatographie als Reinstoffe isoliert. Begründet in der strukturellen Ähnlichkeit von Vorstufe und Produkt erforderte die Isolierung der Endstufen überwiegend eine mehrfache Umkristallisation bzw. zusätzliche dazu eine säulenchromatographische Aufreinigung. Dies resultierte in geringen Ausbeuten der Chinazolin-Chalkone.

Methode A:

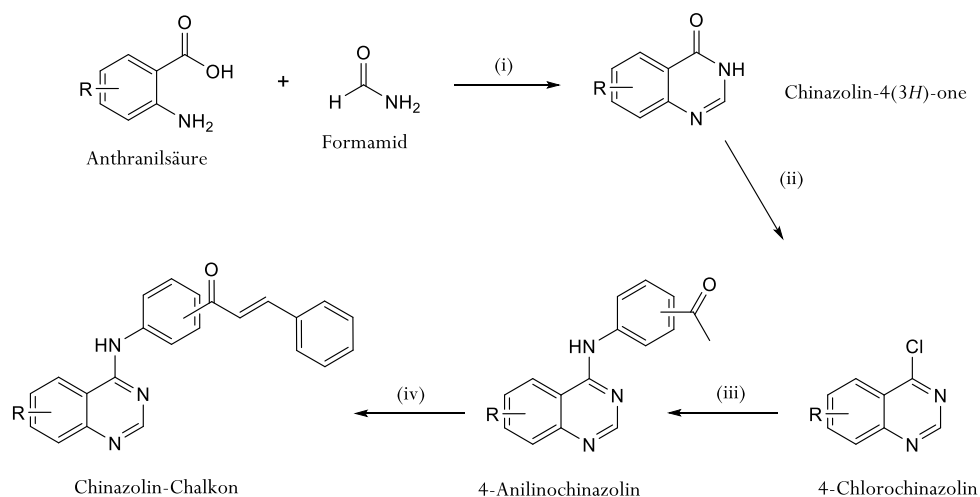


Abbildung 5.5: Syntheschema der an Position 2 unsubstituierten Chinazolin-Chalkone: (i) 150 °C, 8-10 h; (ii) POCl<sub>3</sub>, Reflux, 9 h; (iii) 3'- oder 4'-Aminoacetophenon, Isopropanol, 1-2 h, Reflux; (iv) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Mikrowelle (120 W, 100 °C), 30 min. R = H oder 6,7-OCH<sub>3</sub>.

### Methode B:

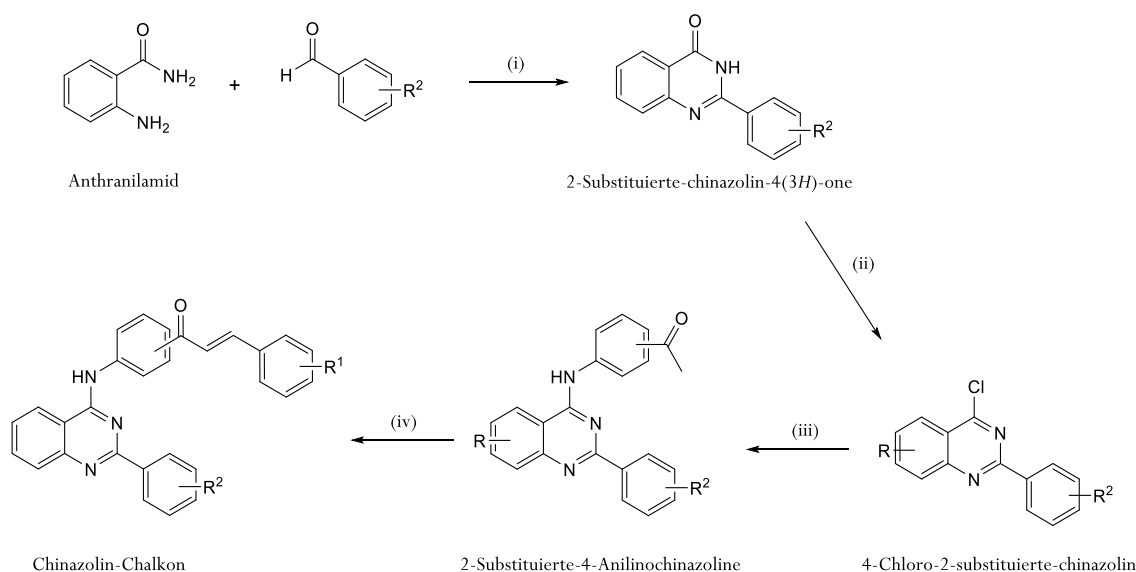


Abbildung 5.6: Syntheschema der Methode B zur Darstellung von 2-substituierten Chinazolin-Chalkonen: (i) DMF, Iod,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 70-90 °C, 4-5 h; (ii)  $\text{POCl}_3$ , 9 h, Reflux; (iii) 3'- oder 4'-Aminoacetophenon, Isopropanol, 1-2 h, Reflux; (iv) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Mikrowelle (120 W, 100 °C), 30 min.

Die Methode B (Abbildung 5.6) diente der Synthese von in Position 2 substituierten Chinazolin-Chalkonen. Hierzu erfolgte die Umsetzung von Anthranilamid mit verschiedenen substituierten, aromatischen Aldehyden zur Bildung der 2-substituierten Chinazolinone. Die folgenden Stufen 2-4 verliefen analog zu den in Methode A beschriebenen.

## 5.3 Biologische Testung der Chinazolin-Chalkone – Serie 1

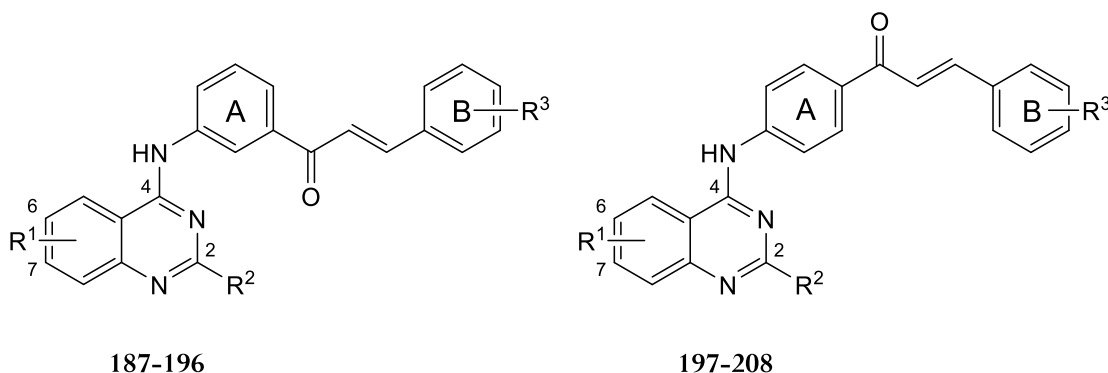
### 5.3.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

Die 22 synthetisierten Chinazolin-Chalkone der ersten Serie wurden mittels des Pheophorbid A Assays unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie auf ihre Hemmwirkung gegenüber ABCG2 untersucht. Die ermittelten  $\text{IC}_{50}$ -Werte sind in Tabelle 5.1 zusammengefasst.

Frühere Studien zu Chalkonen belegten bereits die Notwendigkeit eines substituierten Phenyl-B Ringes. Unsubstituierte Derivate zeigten entweder keine oder nur geringe Aktivität, abhängig vom Substitutionsmuster am Ring A des Chalkons. Besonders hervorzuheben ist die Substitution mit Dimethoxygruppen, welche stets das höchste Potential zeigten [167].

In Bezug auf die Chinazolin- und Chalkonkomponente führte die Kombination beider generell zu einer Steigerung der inhibitorischen Aktivität.

*Tabelle 5.1: Inhibitorische Aktivität der Chinazolin-Chalkone im Pheophorbid A Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zellen. Ko143 diente als Standard.*



| Verb.            | R <sup>1</sup>       | R <sup>2</sup>               | R <sup>3</sup>       | Pheophorbid A<br>Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* |
|------------------|----------------------|------------------------------|----------------------|--|
| 187              | -                    | -                            | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,30 ± 0,12  |
| 188              | -                    | -                            | 4-OCH <sub>3</sub>   | 0,886 ± 0,243  |
| 189 <sup>1</sup> | 6,7-OCH <sub>3</sub> | -                            | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,71 ± 0,07  |
| 190 <sup>1</sup> | 6,7-OCH <sub>3</sub> | -                            | 4-OCH <sub>3</sub>   | 0,324 ± 0,021  |
| 191              | -                    | Phenyl                       | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,461 ± 0,031  |
| 192              | -                    | Phenyl                       | 4-OCH <sub>3</sub>   | 0,970 ± 0,171  |
| 193              | -                    | Phenyl                       | 3-OCH <sub>3</sub>   | 0,681 ± 0,045  |
| 194              | -                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,604 ± 0,041  |
| 195              | -                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 4-OCH <sub>3</sub>   | 0,208 ± 0,020  |
| 196              | -                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3-OCH <sub>3</sub>   | 0,306 ± 0,049  |
| 197              | -                    | -                            | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,840 ± 0,158  |
| 198              | -                    | -                            | 3-OCH <sub>3</sub>   | 0,680 ± 0,038  |
| 199              | 6,7-OCH <sub>3</sub> | -                            | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 1,23 ± 0,17  |

| Verb. | R <sup>1</sup>       | R <sup>2</sup>               | R <sup>3</sup>       | Pheophorbid A<br>Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* |
|-------|----------------------|------------------------------|----------------------|--|
| 200   | 6,7-OCH <sub>3</sub> | -                            | 3-OCH <sub>3</sub>   | 0,394 ± 0,022  |
| 201   | -                    | Phenyl                       | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,291 ± 0,092  |
| 202   | -                    | Phenyl                       | 3-OCH <sub>3</sub>   | 0,883 ± 0,093  |
| 203   | -                    | Phenyl                       | 4-OCH <sub>3</sub>   | 3,55 ± 0,19  |
| 204   | -                    | Phenyl                       | H                    | 0,918 ± 0,133  |
| 205   | -                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,190 ± 0,021  |
| 206   | -                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 3-OCH <sub>3</sub>   | 0,357 ± 0,058  |
| 207   | -                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl | 4-OCH <sub>3</sub>   | 3,13 ± 0,30  |
| 208   | -                    | 3,4-OCH <sub>3</sub> -phenyl | H                    | 1,09 ± 0,13  |
| Ko143 |                      |                              |                      | 0,276 ± 0,040  |

<sup>1</sup> Synthetisiert von Kapil Juvele

\* Die Daten wurden aus mindestens 3 unabhängigen Experimenten ermittelt.

Die erste Reihe der Verbindungen (**187-196**) beginnt mit dem *meta*-Acryloylphenylrest am Ring A des Chalkons. Alle synthetisierten Derivate zeigten einen inhibitorischen Effekt gegenüber ABCG2 mit IC<sub>50</sub>-Werten zwischen 0,2 bis 2 μmol/l. Der Vergleich der Chinazolin-Chalkone **187-190** demonstrierte keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Methoxysubstitution in Position 6 und 7 am in Position 2 unsubstituierten Chinazolingrundgerüst. Lediglich die Kombination aus 6,7-OCH<sub>3</sub> und 4-OCH<sub>3</sub> am Chalkonrest führte zu einer erheblichen Steigerung in der Aktivität, repräsentiert durch die Verbindung **190** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,324 μmol/l. In beiden Fällen führte die 3,4-Dimethoxysubstitution im Gegensatz zur Einfachsubstitution am Ring B des Chalkons zu einer geringfügigen Verschlechterung der Hemmwirkung.

Im Vergleich dazu ergab sich für die in Position 2 mit einem Phenylring substituierten Chinazolin-Chalkone (**191-193**) eine veränderte Prioritätenreihenfolge der Substituenten. Die 3,4-Dimethoxysubstituierte Verbindung stellte sich hier als die Potentesten heraus, gefolgt von dem *meta*-substituierten Methoxy-Derivat. Bei Anwesenheit zusätzlicher Methoxygruppen am 2-Phenylring (**194-196**) verhielt sich das Aktivitätsmuster identisch zu den an Position 2 unsubstituierten Chinazolin-Chalkonen, d.h. die 4-Methoxysubstitution war der 3,4-Dimethoxysubstitution überlegen. Im Fall der Chinazolin-Chalkone, welche einen *meta*-Acryloylphenylrest tragen, war ein positiver Effekt der Substitution in Position 2 des Chinazolingrundgerüsts festzustellen.

Die zweite Reihe der Chinazolin-Chalkone (**197-208**) trägt am Ring A des Chalkons einen *para*-Acryloylphenylrest. Wie zuvor wurden zunächst die in Position 2 unsubstituierten Verbindungen synthetisiert, welche in Position 6,7 unsubstituiert oder mit Methoxygruppen substituiert sind (**197-200**). Der Ring B des Chalkons verfügt entweder über eine Monosubstitution von Methoxy in Position 3 oder eine 3,4-Disubstitution. Im Vergleich der *meta*-Acryloyl- zu den *para*-Acryloylresten, z.B. Verbindung **187** ( $IC_{50} = 1,30 \mu\text{mol/l}$ ) mit **197** ( $IC_{50} = 0,840 \mu\text{mol/l}$ ) und **189** ( $IC_{50} = 1,7 \mu\text{mol/l}$ ) mit **199** ( $IC_{50} = 1,23 \mu\text{mol/l}$ ), ließen letztere einen leichten Anstieg in der Aktivität gegenüber ABCG2 erkennen. Die beiden Derivate mit 6,7-Dimethoxysubstitution und einer Monosubstitution am Ring B des Chalkons (**190** und **200**) erwiesen sich als die aktivsten Vertreter innerhalb der an Position 2 unsubstituierten Chinazolin-Chalkone.

Für die 2-Phenylsubstituierten Chinazolin-Chalkone **201-204** ergab sich ein ähnlicher Effekt des Substitutionsmusters, wie zuvor für die *meta*-Acryloylphenyl-Derivate **191-193**. Das 3,4-Dimethoxy-Derivat **201** ( $IC_{50} = 0,291 \mu\text{mol/l}$ ) zeigte die höchste inhibitorische Aktivität, während sich der 4-Methoxysubstituent (**203**:  $IC_{50} = 3,55 \mu\text{mol/l}$ ) nachteilig auswirkte. Des Weiteren erwies sich auch hier ein 3,4-Dimethoxysubstituierter Phenylring in Position 2 als aktivitätssteigernd. Dies wird durch Verbindung **205** repräsentiert, welche sich innerhalb der ersten Serie der Chinazolin-Chalkone als potentesten Inhibitor herausstellte mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $0,190 \mu\text{mol/l}$ . Interessanterweise ergaben sich für die am Ring B unsubstituierten Verbindungen nahezu identische  $IC_{50}$ -Werte (**204**:  $0,918 \mu\text{mol/l}$  vs. **206**:  $1,09 \mu\text{mol/l}$ ). Dies lässt darauf schließen, dass sich die Substitution in Position 2 des Chinazolingrundgerüsts und der Ring B des Chalkons maßgeblich beeinflussen und damit auch die Hemmwirkung gegenüber ABCG2. Eine graphische Zusammenfassung der Struktur-Wirkungs-Beziehung findet sich in den Abbildung 5.7 und Abbildung 5.8.

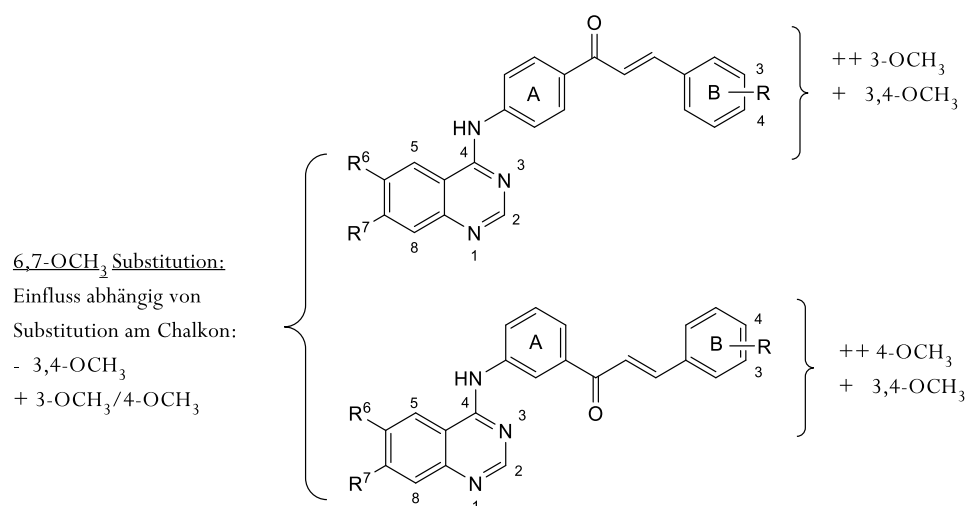


Abbildung 5.7: Struktur-Wirkungsbeziehung der an Position 2 unsubstituierten Chinazolin-Chalkone.

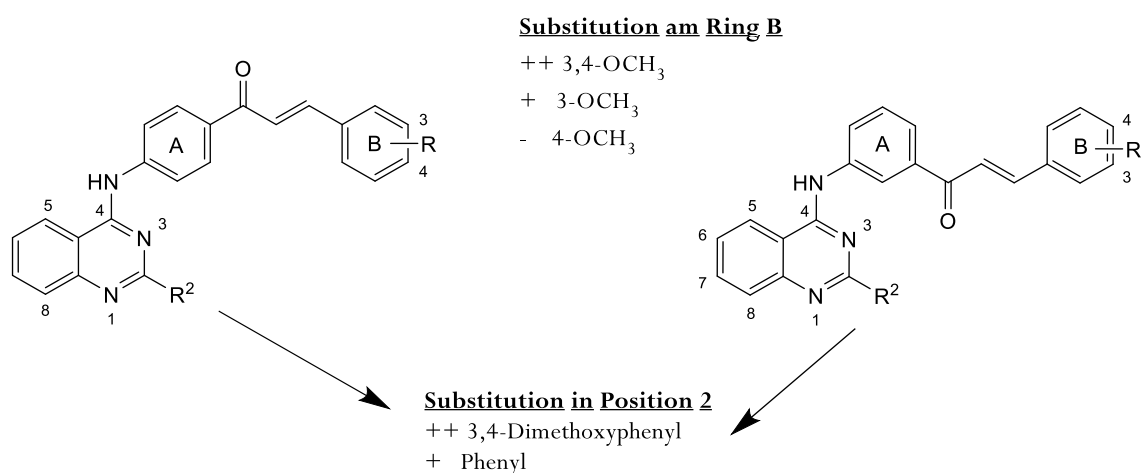


Abbildung 5.8: Struktur-Wirkungs-Beziehung der an Position 2 mit Phenyl- oder 3,4-Dimethoxyphenyl-substituierten Chinazolin-Chalkone.

Zur Bestimmung des Inhibitionstyps der Chinazolin-Chalkone wurden enzymkinetische Studien mit der aktivsten Verbindung **205** und Pheophorbid A durchgeführt. Beim Lineweaver-Burk-Diagramm erfolgte die Auftragung der Transportgeschwindigkeit gegen die Substratkonzentration in An- oder Abwesenheit verschiedener Konzentrationen des Inhibitors **205** (Abbildung 5.9). Die Auswertung ergab eine nicht-kompetitive Hemmung von ABCG2, bezogen auf das Substrat Pheophorbid A. Dieses Resultat deutet in diesem Fall auf unterschiedliche Bindungsstellen von Substrat und Inhibitor hin.

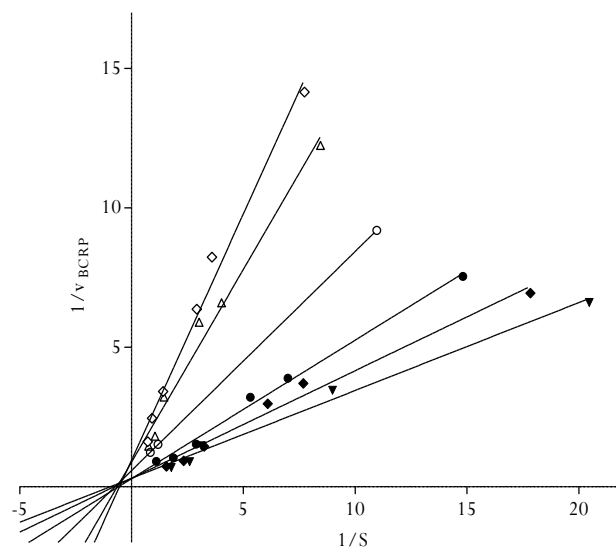


Abbildung 5.9: Lineweaver-Burk-Diagramm des ABCG2 Inhibitors 205 bei unterschiedlichen Konzentrationen des ABCG2 Substrates Pheophorbid A. Die verwendeten Inhibitorkonzentrationen liegen bei 0  $\mu\text{mol/l}$  (gefülltes Dreieck); 0,031  $\mu\text{mol/l}$  (gefüllte Raute); 0,1  $\mu\text{mol/l}$  (gefüllter Kreis); 0,18  $\mu\text{mol/l}$  (nicht gefüllter Kreis); 0,31  $\mu\text{mol/l}$  (nicht gefülltes Dreieck) und 0,56  $\mu\text{mol/l}$  (weiße Raute).

### 5.3.2 Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1

Zur Überprüfung der Selektivität der Chinazolin-Chalkone wurden alle synthetisierten Verbindungen mittels des Calcein AM Assays gescreent und so auf ihr modulierendes Verhalten gegenüber ABCB1 und ABCC1 untersucht.

Die Abbildung 5.10 und Abbildung 5.11 illustrieren den inhibitorischen Effekt der synthetisierten Chinazolin-Chalkone im Calcein AM Assay bei einer fixierten Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  und verweisen auf eine höhere Affinität der Verbindungen zu ABCB1 als zu ABCC1. Wie zu erwarten zeigten die Verbindungen mit Dimethoxysubstitution, insbesondere die Kombination der Substitution am Phenylring in Position 2 und am Ring B des Chalkons, eine erhöhte inhibitorische Aktivität gegenüber ABCB1. Im Vergleich der zwei Reihen, zeigten die Verbindungen mit *meta*-Acryloylphenyl-Rest (**187-196**) eine stärkere Inhibition von ABCB1 als die mit *para*-Acryloylphenyl-Rest (**197-208**). Des Weiteren vermag die Phenylsubstitution in Position 2 des Chinazolingerüsts die Affinität zu senken.

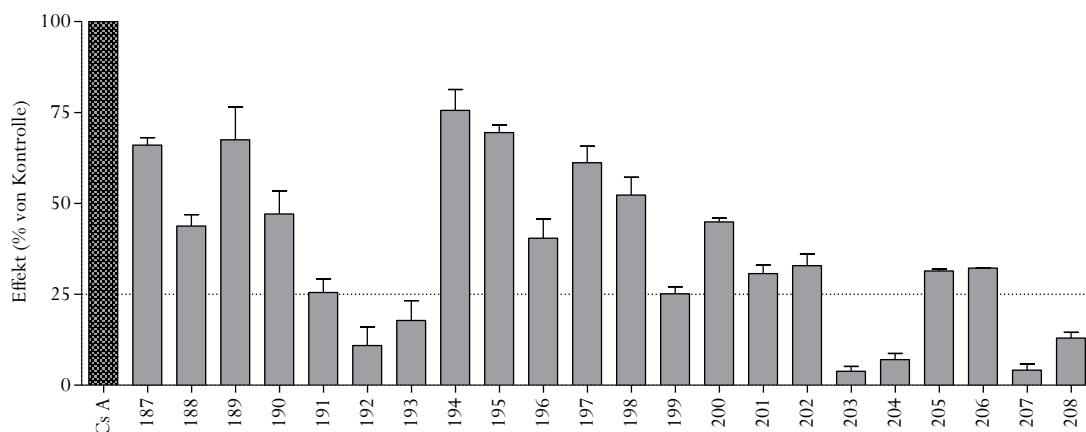


Abbildung 5.10: Effekt der Chinazolin-Chalkone bei einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen. Die Daten wurden normalisiert auf den Standard Cyclosporin A (Cs A,  $10 \mu\text{mol/l}$ ), welcher als 100 % Inhibition definiert wurde.

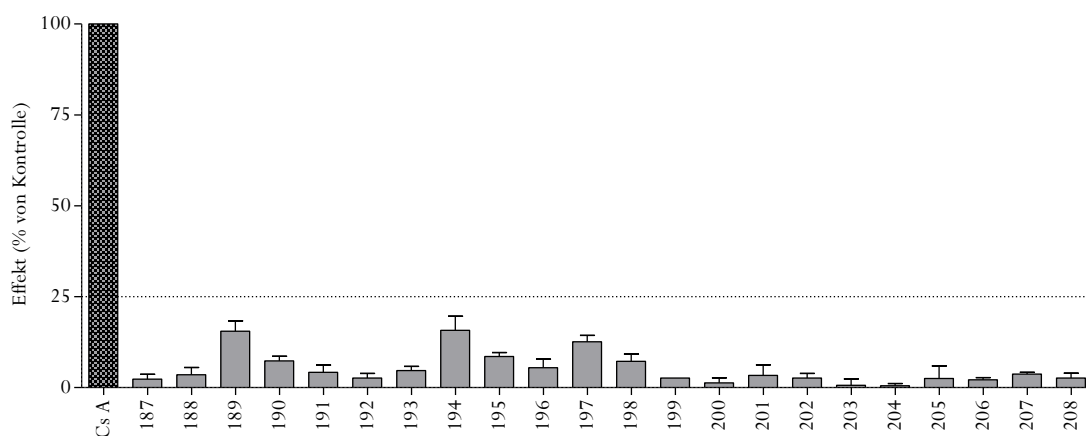


Abbildung 5.11: Effekt der Chinazolin-Chalkone bei einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen. Die Daten wurden normalisiert auf den Standard Cyclosporin A (Cs A,  $10 \mu\text{mol/l}$ ), welcher als 100 % Inhibition definiert wurde.

Zur näheren Charakterisierung der Chinazolin-Chalkone wurden für Verbindungen mit mehr als 25 % Inhibition im ABCB1 Screening Konzentrations-Effekt-Kurven generiert. Die daraus resultierten  $\text{IC}_{50}$ -Werte sind in Tabelle 5.2 zusammengefasst. Die Angabe  $\text{I}_{\text{max}}$ -Wertes erfolgt lediglich für Verbindungen, die ein eigenes Plateau erreichten und somit nicht auf den Standard Cs A fixiert wurden.



Größtenteils zeigten die Chinazolin-Chalkone gegenüber ABCB1 nur eine geringe Hemmwirkung. Hervorzuheben sind die drei Derivate **187** ( $IC_{50} = 0,416 \mu\text{mol/l}$ ), **189** ( $IC_{50} = 0,859 \mu\text{mol/l}$ ) und **194** ( $IC_{50} = 0,484 \mu\text{mol/l}$ ), welche eine geringfügig bessere Hemmwirkung gegenüber ABCB1 als ABCG2 zeigten. Somit sind sie als Dualinhibitoren zu klassifizieren.

*Tabelle 5.2: Inhibitorische Aktivität ausgewählter Chinazolin-Chalkone gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay unter Verwendung der A2780adr Zellen. Zum Vergleich diente der Standard Cyclosporin A.*

| Verbindung    | Calcein AM Assay<br>$IC_{50} \pm SD [\mu\text{mol/l}]^*$ | $I_{\max} \pm SD [\%]^*$ |
|---------------|--|--------------------------|
| 187           | $0,416 \pm 0,049$  | $66 \pm 4$               |
| 188           | $7,08 \pm 1,02$  | n.e.*                    |
| 189           | $0,859 \pm 0,219$  | $68 \pm 13$              |
| 190           | $4,15 \pm 0,97$  | n.e.*                    |
| 194           | $0,484 \pm 0,051$  | $76 \pm 8$               |
| 195           | $1,29 \pm 0,21$  | $70 \pm 3$               |
| 196           | $8,24 \pm 0,07$  | n.e.*                    |
| 197           | $2,34 \pm 0,14$  | $61 \pm 9$               |
| 198           | $5,57 \pm 1,31$  | n.e.*                    |
| 199           | $7,55 \pm 1,52$  | n.e.*                    |
| 200           | $> 10$   | n.e.*                    |
| 201           | $> 10$   | n.e.*                    |
| 204           | $> 10$   | n.e.*                    |
| 205           | $> 10$   | n.e.*                    |
| Cyclosporin A | $1,21 \pm 0,16$  | 100                      |

$I_{\max}$  = maximale Inhibition in Prozent in Relation zum Standard Cyclosporin A (100 %)

n.e.\* = nicht ermittelbar, da topfixiert auf Cs A

\* Die Daten sind aus mindestens drei unabhängigen Experimenten gemittelt  $\pm SD$ .

Zum Vergleich der Aktivitäten gegenüber ABCG2 und ABCB1 wurde mittels der  $IC_{50}$ -Werte aus beiden Assays ein Scatterplot generiert (Abbildung 5.12), welcher veranschaulicht, dass keine Korrelation zwischen den Aktivitäten beider Transporter besteht. Der potenteste ABCG2 Inhibitor, die Verbindung **205**, zeigte nur eine sehr geringe Inhibition der ABCB1 Funktion, keine ABCB1 Hemmwirkung und kann somit als nahezu selektiver ABCG2 Inhibitor klassifiziert werden.

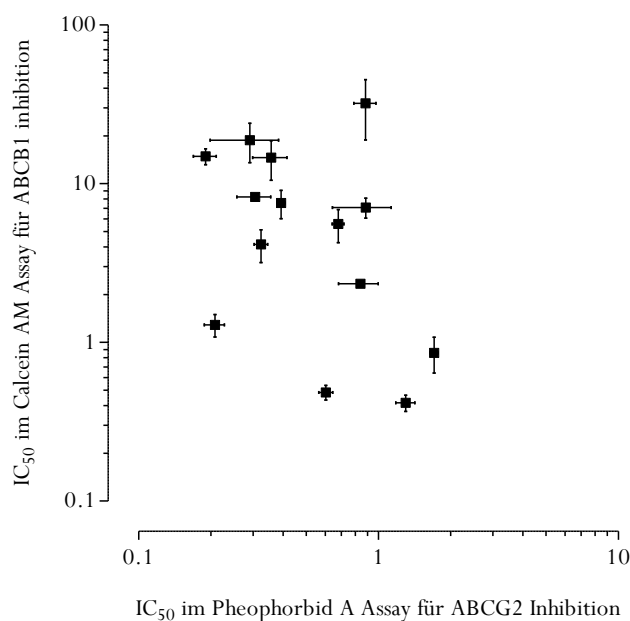


Abbildung 5.12: Scatterplot der  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{mol/l}$ ) ermittelt im Calcein AM Assay für die Inhibition von ABCB1 und im Pheophorbid A Assay für die Inhibition von ABCG2. Jedes Quadrat steht für den Mittelwert der  $IC_{50}$ -Werte ( $n \geq 3$ ) und die Fehlerbalken für die Standardabweichung.

### 5.3.3 ATPase Assay der Chinazolin-Chalkone

Zur näheren Untersuchung der Interaktionen zwischen Chinazolin-Chalkonen und dem ABC Transporter ABCG2 wurde der Effekt der Substanzen bei einer Konzentration von  $1 \mu\text{mol/l}$  auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität untersucht. Die Durchführung des Assays erfolgte wie bereits zuvor beschrieben [212]. Wie in Abbildung 5.13 ersichtlich führten die Verbindungen überwiegend zu einem Anstieg der ATPase Aktivität. Die Derivate **197**, **201** und **205** aktivierten die ATPase sogar im ähnlichen Ausmaß wie der bekannte Aktivator Quercetin. Jene Verbindungen tragen am Ring A einen *para*-Acryloylphenylrest und 3,4-Dimethoxygruppen am Ring B des Chalkons. Die Daten veranschaulichen, dass Chinazolin-Chalkone als ATPase Aktivatoren agieren, was wiederum zu einer bekannten Eigenschaft von ABCG2 Substraten zählt.

Dennoch zeigten sie im Pheophorbid A Assay inhibitorische Verhaltensweisen. In Abhängigkeit vom Substitutionsmuster beeinflussen die Derivate die ATPase in verschiedener Art und Weise. Während bei der *meta*-Acryloylphenylgruppe (**187-196**) nur geringfügige Veränderungen in der Stimulation auftraten, zeigte die *para*-Acryloylphenylgruppe (**197-208**) unterschiedliche Effekte. Eine steigende Anzahl von Methoxygruppen führte stets zu einer Erhöhung der ATPase Aktivität. So zeigte die unsubstituierte Verbindung **204** einen inhibierenden Effekt, ähnlich dem Standard Ko143. Ein geringerer Einfluss der Methoxygruppen zeichnete sich bei den Derivaten mit einer zusätzlichen Methoxysubstitution in Position 6 und 7 des Chinazolingrundgerüsts (**189, 190, 199** und **201**) ab, welche sowohl eine inhibierende, als auch keine signifikante Wirkung auf die ATPase zeigten.

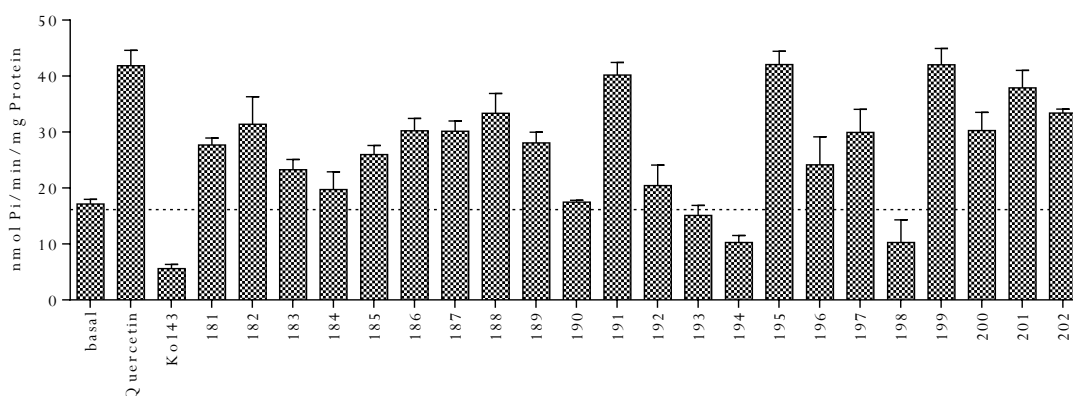


Abbildung 5.13: Effekt der Chinazolin-Chalkone auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität in isolierten ABCG2-enthaltenden Sf9 Membranen bei einer Konzentration von 1  $\mu\text{mol/l}$ . Die Daten wurden mindestens als Triplikate ermittelt und sind als Mittelwert  $\pm$  SD gegeben.

Zur näheren Beschreibung der Effekte von Verbindung **200** (inhibierend) und **205** (aktivierend) wurden Konzentrations-Effekt-Kurven generiert (Abbildung 5.14). Im Verlauf der Kurven ist für Verbindung **205** erkennbar, dass die ATPase bis zu einer Konzentration von 1  $\mu\text{mol/l}$  stimuliert wird, jedoch die Kurve bei höheren Konzentrationen wieder abfällt. Dies lässt auf eine konzentrationsabhängige Stimulation bzw. Inhibition der ATPase Aktivität schließen. Im Vergleich dazu inhibiert Verbindung **200** bereits bei 1  $\mu\text{mol/l}$  und zeigt im weiteren Verlauf keinen aktivierenden Effekt bei höheren Konzentrationen.

Zusammenfassend konnte eine vom Substitutionsmuster und Konzentrationsbereich abhängige aktivierende bzw. inhibierende Wirkung der Chinazolin-Chalkone auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität ermittelt werden.

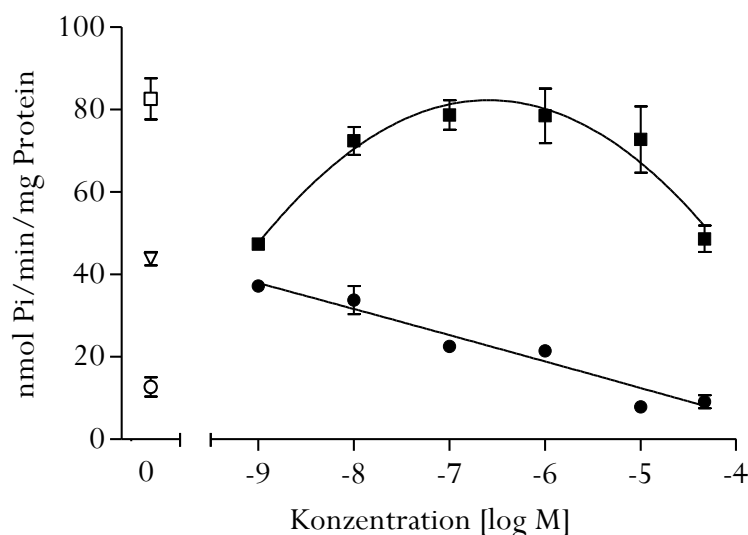
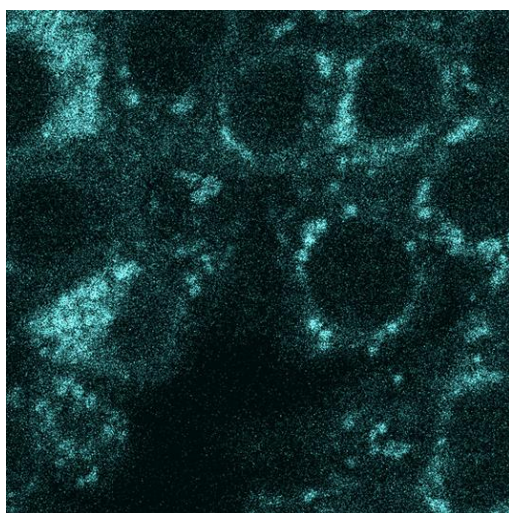


Abbildung 5.14: Vergleich der Effekte zweier ausgewählter Chinazolin-Chalkone auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität in isolierten ABCG2-enhaltenden Sf9 Membranen. Die Datenpunkte für die Verbindungen 200 (gefüllte Kreise) und 205 (gefüllte Quadrate) sind gegeben als Mittelwert  $\pm$  SD. Kontrollwerte veranschaulichen die Aktivität in Abwesenheit der Modulatoren (nicht gefülltes Dreieck), in Anwesenheit von Quercetin (nicht gefülltes Quadrat) als Positivkontrolle und in Anwesenheit von Kol143 (nicht gefüllter Kreis) als Negativkontrolle.

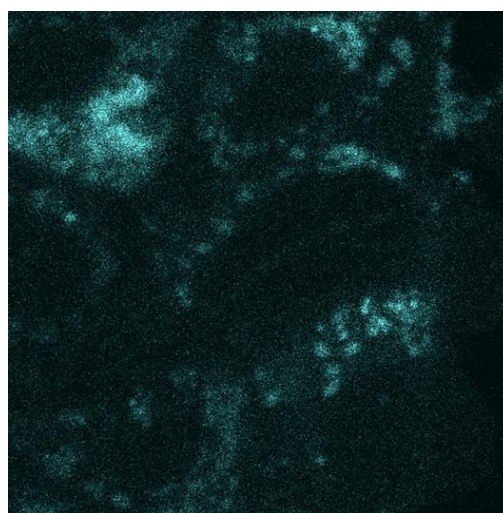
### 5.3.4 Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Verbindung 197 auf Akkumulation in ABCG2 überexprimierenden Zellen

Die Fähigkeit der Chinazolin-Chalkone die ATPase Aktivität von ABCG2 im ähnlichen Maße zu stimulieren wie das bekannte Substrat Quercetin legt die Vermutung nahe, dass die Verbindungen durch ABCG2 transportiert werden. Dies konnte bereits durch die Ergebnisse des MTT Assay widerlegt werden (siehe Kapitel 5.3.5), da sich die ermittelten  $GI_{50}$ -Werte in MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen nicht signifikant unterschieden. Sollten die Chinazolin-Chalkone selbst Substrate sein, wäre die gemessene Zytotoxizität innerhalb der ABCG2 überexprimierenden MDCK II BCRP Zelllinie wesentlich geringer gewesen. Zur genaueren Überprüfung dieser Annahme wurden zusätzliche Fluoreszenz-basierte Untersuchungen durchgeführt. Die Verbindung 197 diente aufgrund moderater Eigenfluoreszenz bei einer Anregungswellenlänge von 405 nm und einer hohen ATPase Stimulation als geeignetes Beispiel.

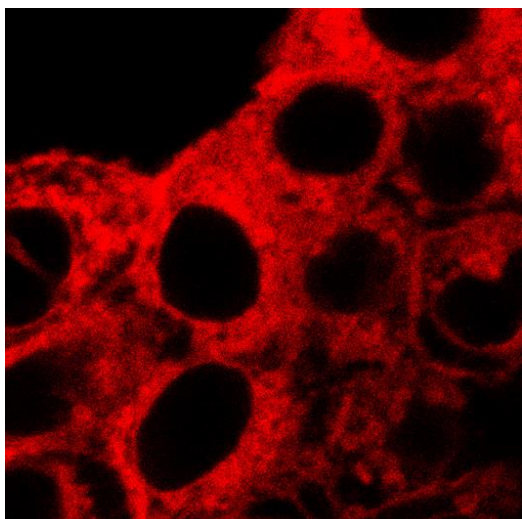
Auf Grund der identischen Anregungs- und Emissionswellenlänge von GFP (Green Fluorescent Protein), welches mit der cDNA von ABCG2 transfizierten MDCK II Zellen verknüpft vorliegt, wurden für die Fluoreszenzstudien parenterale MCF-7 und MCF-7 MX Zellen eingesetzt. Die Zellen wurden mit 10  $\mu\text{mol/l}$  der Verbindung **197** für 2 Stunden unter Zusatz von Medium inkubiert und anschließend mit Puffer dreimal gewaschen. In Zusammenarbeit mit Thomas Ross (Arbeitskreis Prof. Dr. Bendas, Pharmazeutische Chemie II, Universität Bonn) und Katja Stefan erfolgte anschließend die Visualisierung der zellulären Fluoreszenz mittels des Nikon A1 R Konfokal Laser Scanning Mikroskop bei einer Anregungswellenlänge von 405 nm. In Abbildung 5.15 (A) und (B) zeigte sich kein Unterschied in der Fluoreszenzintensität von Verbindung **197** in parenteralen MCF-7 Zellen (A) und MCF-7 MX Zellen (B), was den Efflux der Substanz ausschließt. Als Positivkontrolle wurde der Fluoreszenzfarbstoff Pheophorbid A gewählt, ein bekanntes Substrat von ABCG2. Die Bilder (C) und (D) veranschaulichen die Abnahme der Fluoreszenzintensität von Pheophorbid A in den ABCG2 überexprimierenden MCF-7 MX Zellen, welche den hochregulierten Transport aus der Zelle charakterisieren. Diese Daten wurden nochmals durch die Aufnahme der Kombination aus Pheophorbid A und Verbindung **197** im Bild (E) bestätigt, welches die Anreicherung des Substrates in den resistenten MCF-7 MX zeigt. Zusammenfassend konnte mittels des Konfokal Mikroskops die Fähigkeit der Chinazolin-Chalkone bekräftigt werden ABCG2 zu hemmen, wobei sie selbst nicht als eventuell konkurrierende Substrate vorliegen.



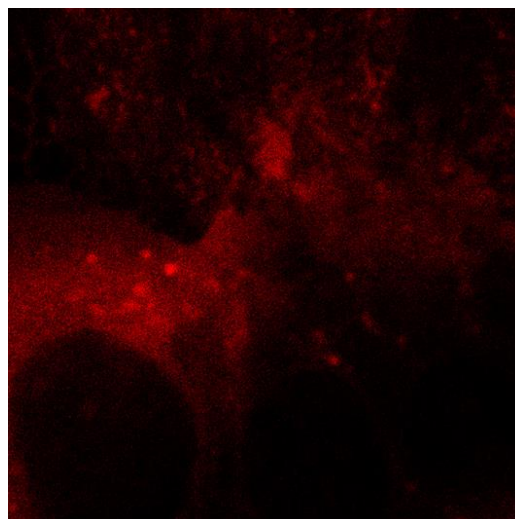
*A: Verb. 197 in parenteralen MCF-7 Zellen*



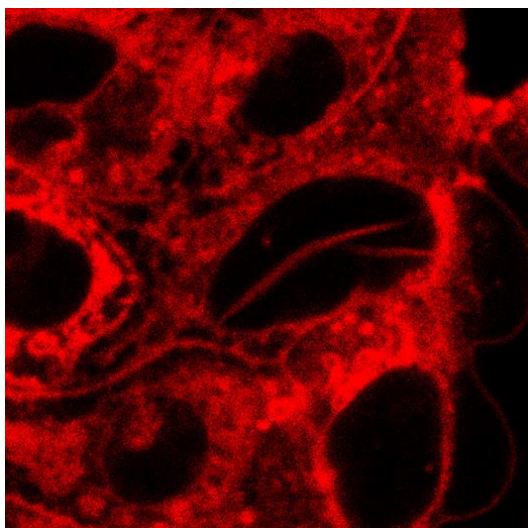
*B: Ver. 197 in ABCG2 überexprimierenden MCF-7 MX Zellen*



*C: Pheophorbid A in parenteralen MCF-7 Zellen*



*D: Pheophorbid A in ABCG2 überexprimierenden MCF-7 MX Zellen*



*E: Pheophorbid A und Verb. 197 in MCF-7 MX Zellen*

*Abbildung 5.15: Akkumulation der Verbindung 197 in parenteralen MCF-7 MX Zellen und MCF-7 Zellen visualisiert im Konfokal Laser Scanning Mikroskop. A: Verb. 197 in MCF-7 Zellen; B: in MCF-7 MX Zellen; C: Pheophorbid A in MCF-7 Zellen; D: Pheophorbid A in MCF-7 MX Zellen; E: Pheophorbid A der Verbindung 197 in MCF-7 MX Zellen [212].*

Mit Hilfe der Fluoreszenz Spektroskopie (ermittelt durch Katja Stefan) konnten diese Ergebnisse zusätzlich bestätigt werden. Dazu erfolgte die Inkubation der parenteralen MCF-7 und MCF-7 MX Zellen mit Verbindung **197** über verschiedene Zeitintervalle. Nach anschließendem Waschvorgang mit Puffer wurde die Fluoreszenzintensität bei einer Anregungswellenlänge von 405 nm

im Fluorimeter vermessen. Die zeitabhängig bestimmte intrazelluläre Fluoreszenzkonzentration zeigte über einen Zeitraum von 3 Stunden keinen Unterschied zwischen beiden Zelllinien. In Abbildung 5.16 ist innerhalb der ersten Minuten ein Anstieg der intrazellulären Konzentration zu beobachten bis sich bei ca. 60 Minuten ein Plateau einstellt. Diese Resultate stehen im Einklang zu den im Konfokal Mikroskop ermittelten Daten und belegen, dass Chinazolin-Chalkone zur Klasse der ABCG2 Inhibitoren zählen und eine gesteigerte ATPase Aktivität nicht zwingend mit dem Transport von Wirkstoffen in Zusammenhang steht.

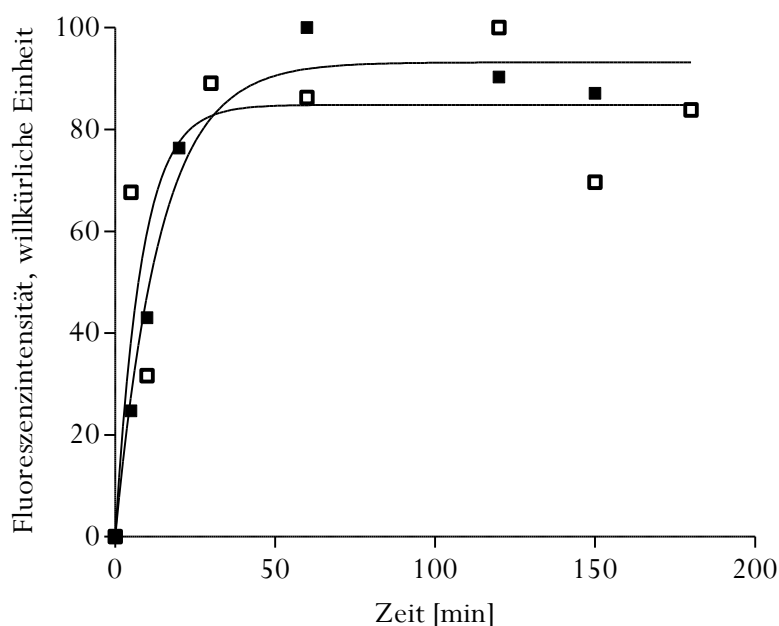


Abbildung 5.16: Aufnahme der intrazellulären Fluoreszenzkonzentration von Verbindung **197** bestimmt in regelmäßigen Zeitintervallen in parenteralen MCF-7 (nicht gefüllte Quadrate) und MCF-7 MX Zellen (gefüllte Quadrate).

### 5.3.5 MTT Assay - Zytotoxizität und Aufhebung der MDR

Zur Untersuchung der entwickelten Chinazolin-Chalkone auf zellspezifische Effekte und zur Bestimmung des therapeutischen Index erfolgte die Messung der intrinsischen Zytotoxizität im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie. Nach 72-stündiger Inkubationsphase der Zellen mit Modulator wurde die Zellvitalität unter Verwendung des Farbstoffes MTT kolorimetrisch vermessen. Wie in Abbildung 5.17 graphisch verdeutlicht zeigten die Verbindungen überwiegend eine Zellvitalität über 50 % bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  und somit kaum zytotoxische Effekte. Lediglich die Verbindungen **198**, **201** und **202**

lagen unter 20 % und zeigten erhöhte Zytotoxizität. Ein struktureller Zusammenhang war dabei nicht auszumachen. Der vielversprechendste ABCG2 Inhibitor (**205**) innerhalb dieser Serie wurde durch Aufnahme einer Dosis-Wirkungskurve näher charakterisiert. Diese stand im Einklang zum Screening und ergab keine Zytotoxizität, repräsentiert durch einen  $GI_{50}$ -Wert von 93  $\mu\text{mol/l}$ .

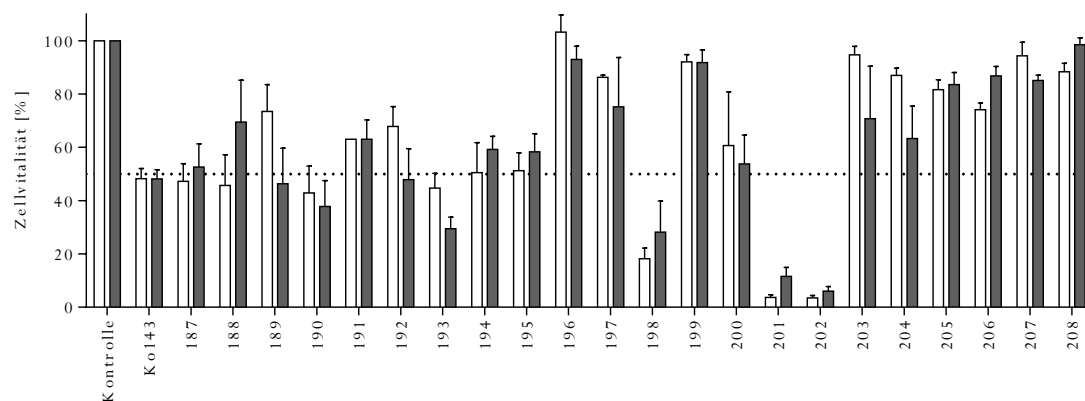


Abbildung 5.17: Balkendiagramm zur Illustration des Einflusses der synthetisierten Chinazolin-Chalkone bei einer fixierten Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  auf die Zellvitalität von MDCK II BCRP (weiß) und MDCK II Wildtyp (dunkelgrau) Zellen. Die Untersuchung erfolgte im MTT Assay und die ermittelten Daten ( $n \geq 3$ ) wurden auf die Kontrolle normalisiert (100 %).

Setzt man die im Pheophorbid A Assay ermittelten  $IC_{50}$ -Werte mit den  $GI_{50}$ -Werten ins Verhältnis, ließ sich daraus der therapeutische Index bestimmen. Eine Zusammenstellung der Daten findet sich in Tabelle 5.3. Für Verbindung **205** ergab sich das höchste Verhältnis aufgrund der hochpotenten Aktivität bei gleichzeitig nicht vorhandener Zytotoxizität innerhalb des Konzentrationsbereiches (bis 100  $\mu\text{mol/l}$ ). Im Vergleich dazu zeigte der bekannte ABCG2 Inhibitor Ko143 einen 10-fach verringerten therapeutischen Index resultierend aus seiner Zytotoxizität. Auch Verbindung **196**, wenn auch im geringeren Ausmaß, demonstrierte ein gutes Verhältnis. Für die ebenfalls potenten Verbindungen **190**, **195** und **201** stellte sich begründet in der gesteigerten Zytotoxizität ein stark verminderter Nutzen für eventuell zukünftigen *in vivo* Studien heraus.



Tabelle 5.3: Therapeutischer Index ausgewählter Chinazolin-Chalkone ermittelt aus dem  $GI_{50}$ -Wert (MTT Zytotoxizität Assay) und dem  $IC_{50}$ -Wert (Pheophorbid A Assay). Die  $GI_{50}$ -Daten an MDCK II Wildtyp Zellen dienen zum Vergleich und Ko143 als Standard.

| Verb. | Pheophorbid<br>A<br>Assay<br>$IC_{50}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II BCRP<br>$GI_{50}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* | MDCK II<br>Wildtyp<br>$GI_{50}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ]* | Therapeutischer<br>Index<br>$GI_{50} \text{ ABCG2} / IC_{50}$ |
|-------|--|---|---|---|
| 187   | 1,30   | 5,14  | 3,42  | 4   |
| 189   | 1,71   | 11,5  | 6,14  | 7   |
| 190   | 0,324  | 12,7  | 16,9  | 39  |
| 194   | 0,604  | 10,9  | 12,6  | 18  |
| 195   | 0,208  | 13,1  | 10,3  | 63  |
| 196   | 0,306  | 84,7  | 65,5  | 277   |
| 201   | 0,291  | 3,80  | 3,46  | 13  |
| 205   | 0,190  | 92,9  | 132   | 489   |
| Ko143 | 0,276  | 11,1  | 10,9  | 40  |

\*  $n \geq 3$ , bis zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$

Des Weiteren wurden für die Verbindungen, welche im Calcein AM Assay eine potente ABCB1 Hemmung aufwiesen, die Zytotoxizität an parenteralen A2780 und A2780adr Zellen ermittelt (Tabelle 5.4). Im Vergleich zu den MDCK II Zellen resultierte für alle Verbindungen eine stark erhöhte Toxizität in den A2780 Zelllinien. Anhand der durch Prof. Dr. Wiese berechneten Korrelationskoeffizienten der  $GI_{50}$ -Werte aus allen vier Zelllinien ließ sich ein ähnliches Verhalten mit unterschiedlicher Basistoxizität ablesen, was auf eine zellspezifische Zytotoxizität verweist (Tabelle 5.5.).

Tabelle 5.4: Therapeutischer Index der an ABCB1 aktiven Chinazolin-Chalkone ermittelt aus den  $IC_{50}$ -(Calcein AM Assay) und  $GI_{50}$ -Werten (MTT Zytotoxizität Assay) unter Verwendung von A2780 und A2780adr Zellen.

| Verb.         | Calcein AM Assay<br>$IC_{50}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] | A2780adr Zellen<br>$GI_{50}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] | A2780 Zellen<br>$GI_{50}$<br>[ $\mu\text{mol/l}$ ] | Therapeutischer Index<br>$GI_{50\text{ adr}}/IC_{50}$ |
|---------------|--|---|--|---|
| 187           | 0,416  | 0,696   | 0,654  | 2   |
| 189           | 0,859  | 1,50  | 1,35   | 2   |
| 194           | 0,484  | 1,71  | 1,98   | 4   |
| 195           | 1,29   | 3,25  | 4,39   | 3   |
| Cyclosporin A | 1,21   | 8,63  | 8,94   | 7   |

Tabelle 5.5: Korrelationskoeffizienten der  $GI_{50}$ -Werte ermittelt aus 4 verschiedenen Zelllinien.

|                 | MDCK II Wildtyp | MDCK II BCRP | A2780 Wildtyp | A2780adr |
|-----------------|-----------------|--------------|---------------|----------|
| MDCK II Wildtyp | 1               |              |               |          |
| MDCK II BCRP    | 0,970           | 1            |               |          |
| A2780 Wildtyp   | 0,846           | 0,866        | 1             |          |
| A2780adr        | 0,832           | 0,918        | 0,991         | 1        |

Mittels MTT Assays wurde ebenfalls die Fähigkeit zur Aufhebung der Multidrug-Resistenz ermittelt. Dazu erfolgte die Vermessung der Zytotoxizität von SN-38 in An- bzw. Abwesenheit des Inhibitors **205**. Durch Verschiebung der Toxizitätskurve der SN-38 resistenten MDCK II BCRP Zelllinie hin zur MDCK II Wildtyp Zelllinie in Anwesenheit unterschiedlicher Konzentrationen des Inhibitors wurde das Potential die MDR aufzuheben verdeutlicht. Für Verbindung **205** wurden die finalen Konzentrationen 0,01 und 0,1  $\mu\text{mol/l}$  gewählt.

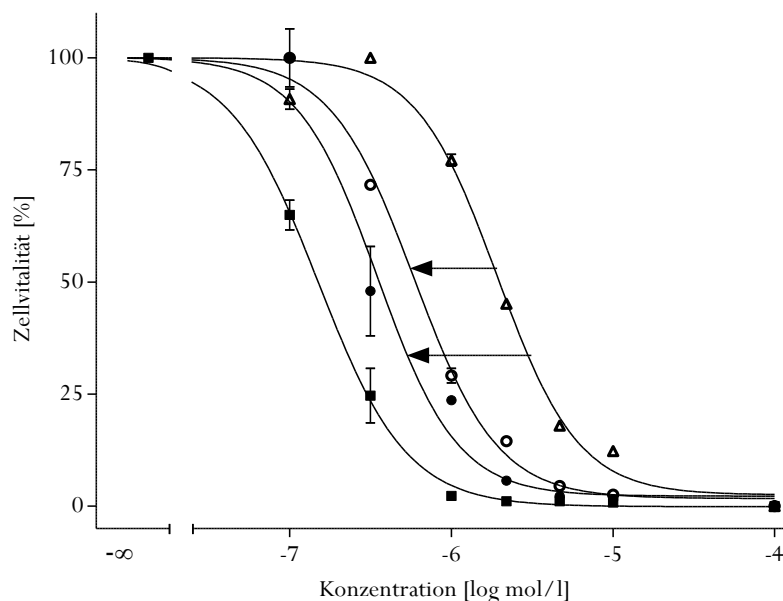


Abbildung 5.18: Repräsentative Verschiebung der Dosis-Effektkurve der SN-38 Zytotoxizität unter Einfluss des Inhibitors 205. Die Pfeile veranschaulichen die konzentrationsabhängige Sensitivierung von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38. Der Effekt des Chinazolin-Chalkons wurde bei 0,01  $\mu\text{mol/l}$  (nicht gefüllte Kreise) und 0,1  $\mu\text{mol/l}$  (gefüllte Kreise) untersucht. Zum Vergleich dienten ABCG2 überexprimierende MDCK II BCRP (nicht gefüllte Dreiecke) und MDCK II Wildtyp Zellen (gefüllte Quadrate) mit SN-38 und ohne Zusatz des Inhibitors.

### 5.3.6 Resümee der Chinazolin-Chalkone – Serie 1

Die Kombination aus dem Chinazolin- und Chalkon-Grundgerüst resultierte in hochpotenten ABCG2 Inhibitoren mit  $\text{IC}_{50}$ -Werten im submikromolaren Konzentrationsbereich. Insgesamt wurden 22 Verbindungen synthetisiert und auf ihre biologische Aktivität untersucht. Zur Optimierung der Chinazolin-Chalkone wurden folgende Substitutionsmuster auf ihren Einfluss auf die inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 analysiert:

- Einfluss der Position 2 des Chinazolin-Grundgerüsts durch Variationen der Substitution ausgehend von unsubstituierten Derivaten über einen Phenylrest hin zu einem 3,4-Dimethoxyphenylrest
- Methoxygruppen in Position 6,7 des Chinazolines
- *Meta*- oder *para*-Acryloylphenylrest am Ring A des Chalkons
- Mono- und Dimethoxysubstitution am Ring B des Chalkons sowie gänzlich Fehlen einer Methoxysubstitution.

Im Vergleich der Aktivitäten kristallisierte sich ein 3,4-Dimethoxyphenylrest in Position 2 des Chinazolines, gefolgt vom *para*-Acryloylphenylrest und eine Methoxysubstitution am Ring B als vielversprechendstes Substitutionsmuster heraus. Weiterhin zeigte die Mehrheit der Derivate nur eine geringe Affinität zu ABCB1 und keine Affinität zu ABCC1. Lediglich bei drei der Verbindungen (**187**, **189** und **194**) wurde eine höhere Aktivität gegenüber ABCB1 ermittelt als es bei ABCG2 der Fall war. Als Beispiel sei der Dualinhibitor **194** genannt, mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,604 µmol/l für ABCG2 und 0,484 µmol/l für ABCB1. Jedoch sind jene Dualinhibitoren, begründet durch ihre hohe Zytotoxizität, in ihrem therapeutischen Nutzen limitiert.

Weiterhin erfolgten eingehende Untersuchungen zur Beeinflussung der ATPase Aktivität. Diese resultierte in überwiegender Stimulation der ATPase durch Chinazolin-Chalkone. Um mögliche Substanzteigenschaften der Verbindungen auszuschließen, wurden Fluoreszenz-basierte Untersuchungen durchgeführt, welche einen Transport durch ABCG2 widerlegten.

Die Notwendigkeit untoxische Wirkstoffe zu entwickeln, welche die Effluxfunktion der ABC Transporter zu hemmen vermögen und so die Effizienz einer Chemotherapie steigern, wird zunehmend relevanter. Der potenteste Inhibitor dieser Serie an Chinazolin-Chalkonen ist nicht toxisch, nahezu selektiv und besitzt die Fähigkeit die MDR aufzuheben. Zusammenfassend wurde eine neuartige Klasse von potenten Inhibitoren aus der Kombination zweier bereits erprobter Leitstrukturen entwickelt.

## 5.4 Biologische Testung der Chinazolin-Chalkone – Serie 2

Zur näheren Klassifizierung der Chinazolin-Chalkone, bezogen auf ihre Hemmwirkung gegenüber ABCG2 und um die Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu erweitern, wurde eine zweite Serie von insgesamt 12 Derivaten synthetisiert und ihr inhibitorischer Effekt auf die drei ABC Transporter evaluiert. Um die Struktur-Wirkungs-Beziehung eingehender zu definieren wurden 2 Ansätze verfolgt:

1. Veränderung der Substitution am Ring B des Chalkons gegen nicht-Methoxygruppen, wobei die Substitution in Position zwei des Chinazolingrundgerüsts identisch gehalten wurde.
2. Die Methoxysubstitution am Ring B blieb erhalten und der Rest in Position 2 des Chinazolin wurde variiert.

Für alle Derivate wurde der Acryloylphenylrest in *para*-Position gewählt, da sich dieser in Serie 1 als effektivster herauskristallisierte. Im Zuge der Vollständigkeit wurde ebenfalls die Affinität zu ABCB1 / ABCC1 und die intrinsische Zytotoxizität bestimmt.

#### 5.4.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

Die Chinazolin-Chalkone **209-220** wurden im Pheophorbid A Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 untersucht. Dabei diente der bekannte Inhibitor Ko143 als Standard. Die ermittelten IC<sub>50</sub>-Werte sind unter Angabe der maximalen Inhibition in Prozent in Relation zum Standard Ko143 ( $I_{\max} = 100\%$ ) in Tabelle 5.6 zusammengefasst.

Innerhalb der ersten Gruppe an Derivaten (**209-213**) wurde zunächst für die Position 2 des Chinazolins ein unsubstituierter Phenylrest ausgewählt und die Reste am Ring B des Chalkons variiert. Zu den ausgewählten Substituenten zählten unter anderem 3- / 4-Nitro und 4-Cyano. Diese erwiesen sich insbesondere in Bezug auf Chinazoline als aktivitätssteigernd am Anilinoest in Position 4 [184]. Die Verbindung **210** (4-NO<sub>2</sub>) mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1,45 µmol/l und **211** (4-CN) mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1,18 µmol/l zeigten innerhalb der ersten Gruppe die höchste Aktivität. Daneben wiesen die übrigen Vertreter (**209**, **212** und **213**) eine verminderte Hemmwirkung auf und erzielten lediglich IC<sub>50</sub>-Werte > 2 µmol/l. Weiterhin soll erwähnt sein, dass keine der Verbindungen eine vergleichbare Inhibition zum Standard erzielte (Ko143, 100%). Mit Ausnahme des Derivates **211** (68 % Inhibition) lag die maximal Hemmung von ABCG2 bei etwa 40 %.

Im Vergleich zu Methoxygruppen war keinerlei Steigerung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 zu verzeichnen und daher wurde von der Synthese weiterer Variationen, wie z.B. einer 3,4-Dimethoxysubstitution in Position 2 abgesehen. Die Ergebnisse bestätigten die bereits vermutete Effizienz bzw. die essentielle Anwesenheit der Methoxysubstitution am Ring B des Chalkons.

Innerhalb der zweiten Gruppen an Derivaten (**214-220**) wurden für die Substitution am Ring B des Chalkons Methoxygruppen gewählt und der Rest 1 in Position 2 des Chinazolins variiert. Die Verbindungen **214-217** tragen in Position 2 einen 3-Nitrophenylring. Dabei stellte sich die

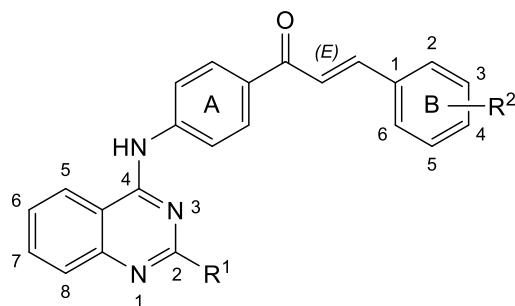
Verbindung **214**, substituiert mit 3,4-Dimethoxy, als potenteste Kombination innerhalb der Nitro-Derivate und der gesamten Serie 2 mit einem  $IC_{50}$  von 0,495  $\mu\text{mol/l}$  heraus. Gefolgt von

4-Methoxy (**215**:  $IC_{50} = 0,738 \mu\text{mol/l}$ ) und 3-Methoxy (**216**), und schließlich dem am Ring B unsubstituierten Vertreter (**217**:  $IC_{50} = 2,09 \mu\text{mol/l}$ ). Die 3- (**218**) und 4-Cyanophenyl (**219**) Verbindungen zeigten im Vergleich eine geringfügig herabgesetzte inhibitorische Aktivität, unterschieden sich jedoch untereinander kaum. Mit Ausnahme der Derivate **216** und **217** erreichten alle ein Inhibitionslevel von über 60 % im Vergleich zum Standard Ko143. Schließlich wurde in Position 2 ein Pyridylrest eingefügt, um den Einfluss einer heterozyklischen Komponente im Vergleich zum unsubstituierten Phenylring zu untersuchen. Jedoch ergab sich am Beispiel des Derivates **220** ( $IC_{50} = 2,25 \mu\text{mol/l}$ ) kein aktivitätssteigernder Effekt. Die Hemmwirkung gegenüber ABCG2 und die maximale Inhibition sanken drastisch. Deswegen wurde auch hier von der Entwicklung weiterer Derivate abgesehen.

Zusammenfassend ließ sich kein Vorteil aus den vorgenommenen Variationen für die inhibitorische Potenz ziehen. Dennoch konnten weitere Erkenntnisse über das Grundgerüst der Chinazolin-Chalkone bzw. für die Relation zwischen Struktur und Wirkung gewonnen werden. Die Ergebnisse bestätigten zwei Annahmen:

1. Die Methoxysubstitution am Ring B des Chalkons beeinflusst maßgeblich die Aktivität gegenüber ABCG2.
2. Der in Position 2 des Chinazolingrundgerüsts unsubstituierte Phenylring bzw. 3,4-Dimethoxy-substituierte Phenylring wirkt sich aktivitätssteigernd aus.

Tabelle 5.6: Inhibitorischer Effekt der zweiten Serie von Chinazolin-Chalkonen gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A Assay unter Verwendung von MDCK II BCRP Zellen. Ko143 (100 % Inhibition) diene als Standard zur Bestimmung der  $I_{\max}$  Werte.



209-220

| Verbindung | R <sup>1</sup>            | R <sup>2</sup>       | Pheophorbid A                               |                            |
|------------|---------------------------|----------------------|---|----------------------------|
|            |                           |                      | Assay<br>IC <sub>50</sub> ± SD<br>[μmol/l]* | I <sub>max</sub> ± SD [%]* |
| 209        | Phenyl                    | 3-NO <sub>2</sub>    | 2,57 ± 0,52                                 | 39 ± 9                     |
| 210        | Phenyl                    | 4-NO <sub>2</sub>    | 1,45 ± 0,08                                 | 46 ± 16                    |
| 211        | Phenyl                    | 4-CN                 | 1,18 ± 0,19                                 | 68 ± 3                     |
| 212        | Phenyl                    | 4-Cl                 | 2,88 ± 0,51                                 | 38 ± 3                     |
| 213        | Phenyl                    | 4-CF <sub>3</sub>    | 2,24 ± 0,23                                 | 38 ± 10                    |
| 214        | 3-NO <sub>2</sub> -phenyl | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,495 ± 0,050                               | 71 ± 1                     |
| 215        | 3-NO <sub>2</sub> -phenyl | 4-OCH <sub>3</sub>   | 0,738 ± 0,115                               | 63 ± 4                     |
| 216        | 3-NO <sub>2</sub> -phenyl | 3-OCH <sub>3</sub>   | 1,52 ± 0,10                                 | 49 ± 19                    |
| 217        | 3-NO <sub>2</sub> -phenyl | H                    | 2,09 ± 0,22                                 | 38 ± 16                    |
| 218        | 3-CN-phenyl               | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 0,996 ± 0,125                               | 76 ± 13                    |
| 219        | 4-CN-phenyl               | 4-OCH <sub>3</sub>   | 0,997 ± 0,186                               | 64 ± 13                    |
| 220        | 2-Pyridyl                 | 3,4-OCH <sub>3</sub> | 2,25 ± 0,22                                 | 47 ± 9                     |
| Ko143      |                           |                      | 0,276 ± 0,040                               | 100                        |

$I_{\max}$  = maximale Inhibition in Relation zum Standard Cyclosporin A (100 %).

\* Die IC<sub>50</sub>-Daten ± Standardabweichung (SD) wurden in mindestens 3 unabhängigen Experimenten bestimmt.

### 5.4.2 Bestimmung der Inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1 und ABCC1

Zur näheren Charakterisierung der zweiten Serie an Chinazolin-Chalkonen wurden ausgewählte Verbindungen auf ihre Selektivität gegenüber ABCG2 untersucht. Dazu erfolgte ein Screening bei 10  $\mu\text{mol/l}$  Modulatorkonzentration im Calcein AM Assay mit ABCB1 überexprimierenden A2780adr und ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen. Die Abbildung 5.19 veranschaulicht die Hemmung von ABCB1 und ABCC1 durch die Chinazolin-Chalkone. Mit Ausnahme der Verbindung **220** war keine signifikante Affinität gegenüber beiden Transportern zu verzeichnen.

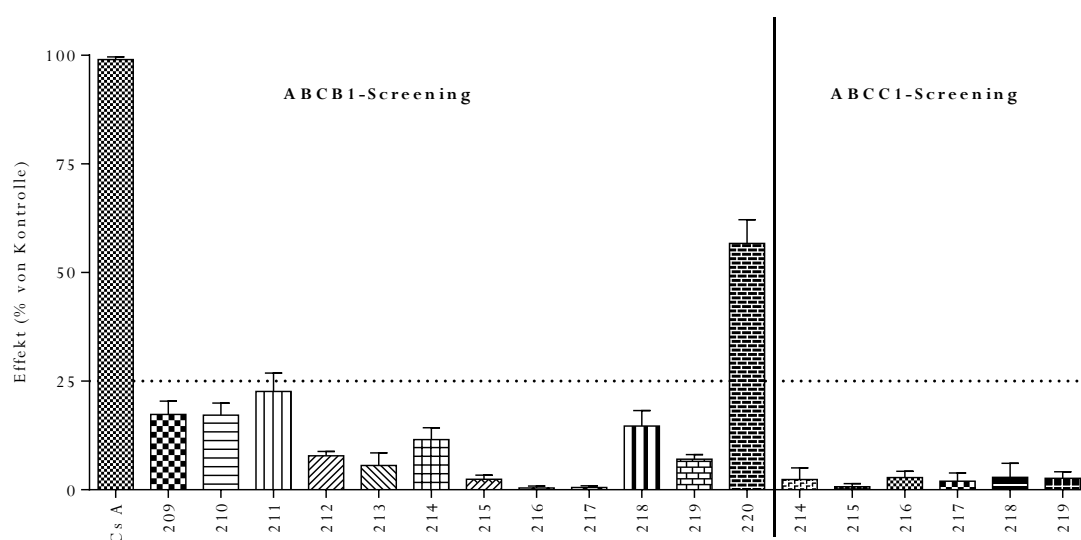


Abbildung 5.19: Effekt der Chinazolin-Chalkone Serie 2 bei einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  im Calcein Assay unter Verwendung der A2780adr (ABCB1) und H69AR (ABCC1) Zellen. Die Daten liegen normalisiert vor, wobei die Inhibition durch Cyclosporin A (Cs A, 10  $\mu\text{mol/l}$ ) als 100 % definiert wurde. Gegeben sind die Mittelwerte  $\pm$  SD berechnet aus mindestens drei unabhängigen Experimenten. Linkes Balkendiagramm: ABCB1 Screening, rechtes Balkendiagramm: ABCC1 Screening.

Für die Verbindung **220**, welche eine Inhibition  $> 25\%$  zeigte wurde der  $\text{IC}_{50}$ -Werte ermittelt. Es ergab sich dabei ein  $\text{IC}_{50}$ -Wert von  $1,50 \pm 0,47 \mu\text{mol/l}$ . Damit demonstrierte sie im Vergleich zu ABCG2 eine gesteigerte Affinität gegenüber ABCB1.



### 5.4.3 MTT Assay - Zytotoxizität

Der MTT Assay wurde herangezogen um die intrinsische Zytotoxizität der vielversprechendsten Verbindung (**214**) bis zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  zu bestimmen. Eine repräsentative Dosis-Effekt Kurve ist in Abbildung 5.20 graphisch aufgezeigt. Dabei ergab sich, dass die Verbindung **214** mit einem  $\text{GI}_{50}$ -Wert von 10,5  $\mu\text{mol/l}$  toxisch ist. Dies vermindert den Nutzen für weiterführende *in vivo* Studien.

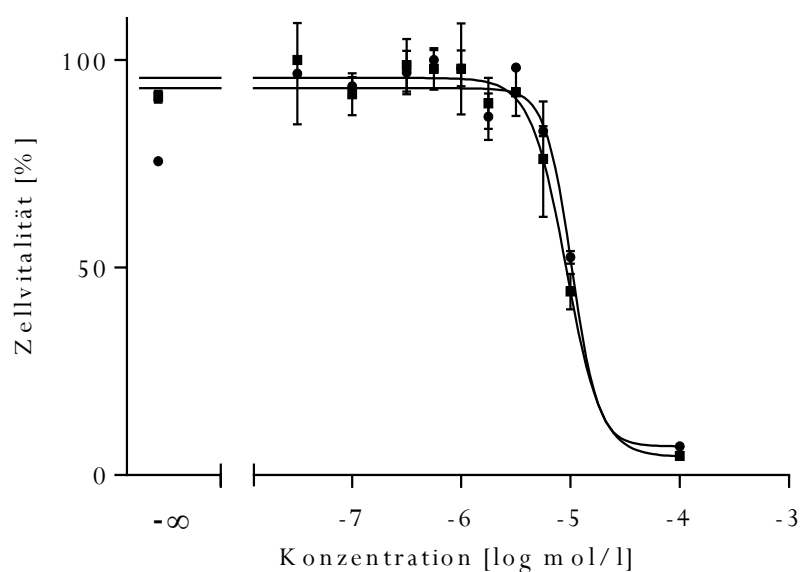


Abbildung 5.20: Intrinsische Zytotoxizität der Verbindung **214** ermittelt im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie bis zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  über 72 Stunden. MDCK II BCRP: geschlossener Kreis, MDCK II Wildtyp: geschlossenes Quadrat.

### 5.4.4 Resümee der Chinazolin-Chalkone – Serie 2

Zusammenfassend ergaben sich durch die zweite Serie der Chinazolin-Chalkone zwei wichtige Zusammenhänge für die Struktur-Wirkungs-Beziehung dieser Stoffklasse:

1. Die Methoxysubstitution am Ring B des Chalkons ist maßgeblich an der inhibitorischen Aktivität beteiligt. Ein Austausch resultierte in einer verminderten Hemmwirkung gegenüber ABCG2.
2. Eine Substitution in Position 2 der Chinazolingrundstruktur durch einen unsubstituierten Phenylring oder 3,4-Dimethoxyphenylring wirkt sich positiv auf die Hemmwirkung aus.

Die Ergebnisse verweisen auf die Tatsache, dass die Chinazolin-Chalkone nicht unmittelbar mit den Chinazolin-Verbindungen verglichen werden können, da der eingefügte Acryloylphenylrest einen maßgeblichen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität ausübt.

## 5.5 (Photo)-Isomerisierung

Eine weitere bekannte Eigenschaft der Chalkone betrifft die Doppelbindung der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylkomponente. Wie bereits im Kapitel 1.3 erwähnt, kann die Doppelbindung der Chalkone in der *E*- oder *Z*-Konfiguration vorliegen (Abbildung 5.21). Thermodynamisch ist größtenteils das *E*-Isomer stabiler, da es im Falle des *Z*-Isomers zu starken sterischen Interaktionen zwischen Aryl- und Carbonylgruppe kommt [242]. Während der Synthese tritt häufig ein *E/Z* Gemisch der Chalkone auf. Jedoch wird nach Umkristallisation nur das reine *E*-Isomer als Feststoff isoliert und ist auch in dieser Form stabil [243]. Weiterhin ist bekannt, dass die Carbonylgruppe der Chalkone in Lösung labil und somit gegenüber Lichteinwirkung einer (Photo)-Isomerisierung unterliegen kann. Dabei sind die Isomerisierung und das Verhältnis zwischen *E* und *Z* von der Substitution am Aromaten und vom Lösungsmittel abhängig [244–246].

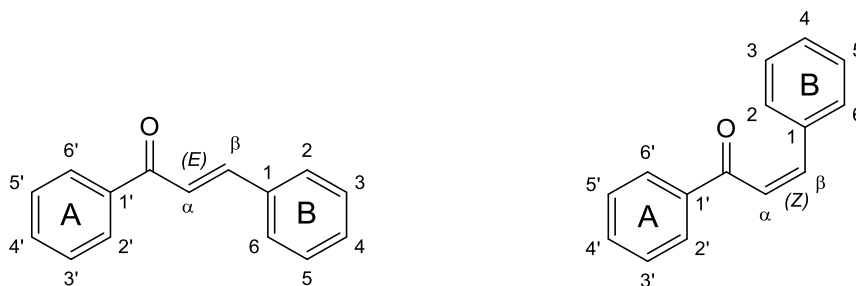


Abbildung 5.21: Grundstruktur der Chalkone in der *E*- (links) und *Z*-Konfiguration (rechts).

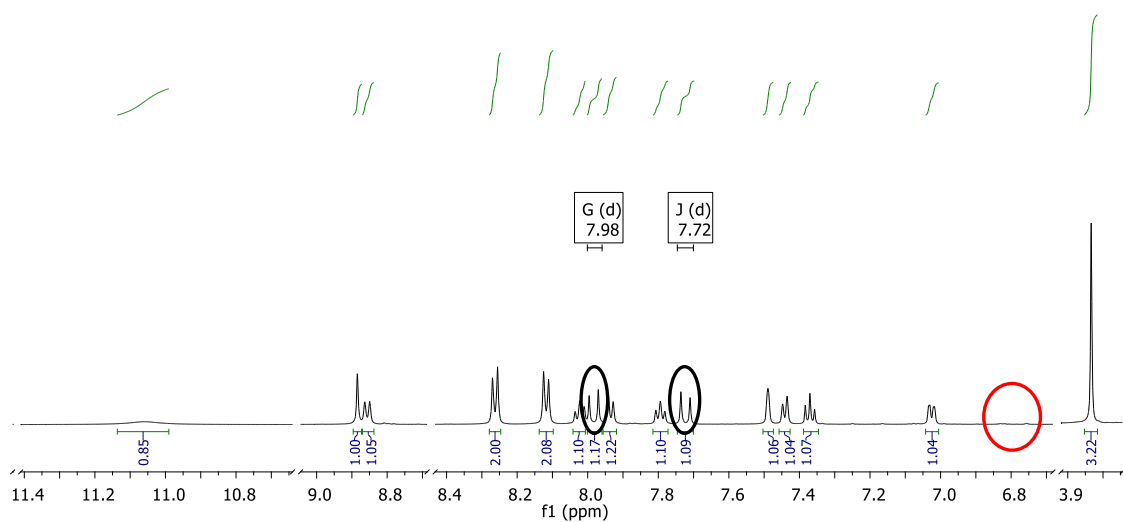
Sowohl die Chinazolin-Chalkone, als auch die Acryloylphenylcarboxamide und Acryloylphenylcarboxylate wurden ausnahmslos in der *E*-Konfiguration isoliert. Dies wird durch die  $^1\text{H}$ -NMR Spektren der einzelnen Verbindungen bestätigt. Charakteristischerweise lassen sich im  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum zwei Dubletts im Bereich von 7-8 ppm mit einer für die *E*-Konfiguration typischen Kopplungskonstante von 15-16 Hz ausmachen. In einigen Fällen entstanden Spektren höherer Ordnung, wobei die klare Aufspaltung der Dubletts verloren ging. Dennoch zeichneten sich die Dubletts unter den Multipletts ab.

Bei der Reinheitsbestimmung der Chinazolin-Chalkone mittels der LC-MS Methode ließen die Spektren 2 Peaks mit gleicher Masse erkennen, was wiederum auf ein *E/Z*-Gemisch der Verbindungen hinwies. Das Verhältnis von *E* und *Z* war für jede Verbindung unterschiedlich. Alle Proben wurden erst mehrere Stunden nach Herstellung der Probelösung vermessen und waren während dieser Zeit dem Licht ausgesetzt.

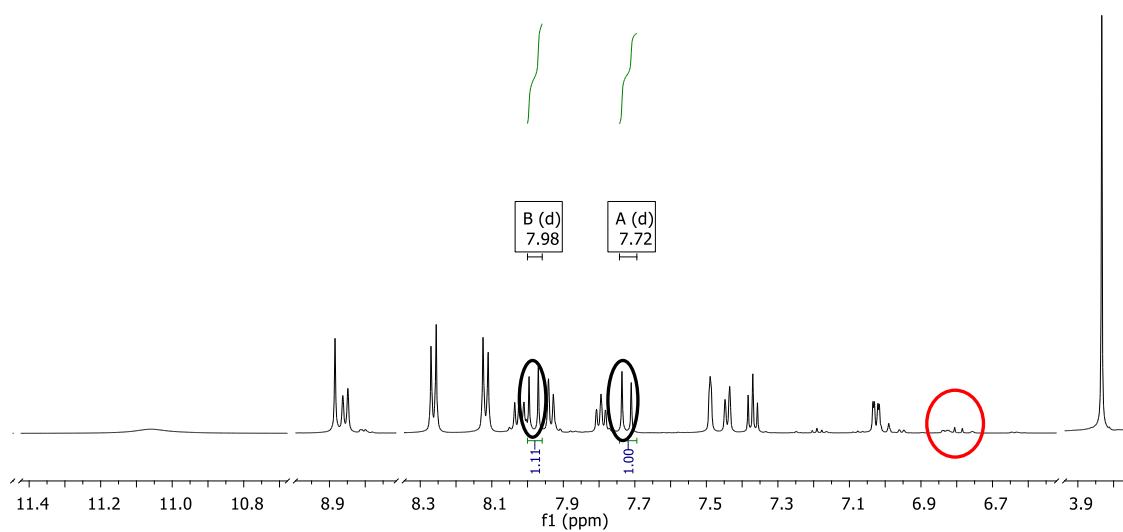
Daraufhin wurde das Phänomen der (Photo)-Isomerisierung näher untersucht, wobei es in erster Linie um die Stabilität der DMSO Stammlösungen für die biologische Testung ging. Die Verbindung **198** wurde exemplarisch zu weiteren Studien herangezogen, da sich hier der Effekt in der LC-MS Messung am deutlichsten äußerte.

Zunächst wurde mit Hilfe der NMR Spektroskopie der Grad an Isomerisierung der Verbindung **198** näher untersucht. Dazu wurde eine Probe der Substanz in DMSO- $d_6$  gelöst und direkt sowie nach 24 Stunden und 8 Tagen vermessen. Die Abbildung 5.22A zeigt das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der direkt vermessenen Probe. Die zwei Dubletts der Doppelbindung liegen bei 7.98 und 7.72 ppm und weisen je eine Kopplungskonstante von 15,6 Hz auf. Das NMR-Spektrum belegt eindeutig die reine *E*-Konfiguration des Derivates. In Abbildung 5.22B ist nach 24 Stunden unter Tageslichteinwirkung im Bereich der typischen Verschiebung (6.8 ppm) des *Z*-Isomers eine leichte Veränderung zu erkennen, was auf eine beginnende Isomerisierung schließen lässt. Ein wirklich ausschlaggebender Effekt war nach 8 Tagen zu verzeichnen. Hier war eindeutig im rotmarkierten Bereich ein charakteristisches Dublett bei 6.80 ppm mit einer Kopplungskonstante von 12,9 Hz zu erkennen. Zusammenfassend zeigte dieser Ansatz, dass eine Isomerisierung in DMSO unter Tageslichteinwirkung nur sehr langsam vonstattengeht, was für die Stabilität der Probe im genannten Lösungsmittel spricht.

**A**



**B**



C

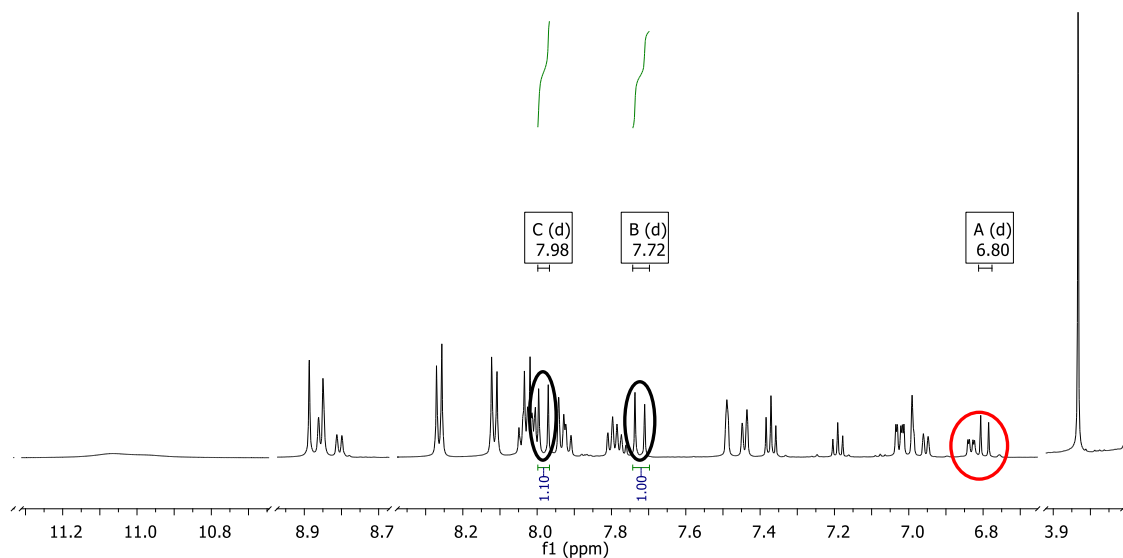


Abbildung 5.22: Darstellung der Photoisomerisierung der Verbindung **198** im  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ) Spektrum unter Tageslichteinwirkung nach 0 Stunden (A), 24 Stunden (B) und 8 Tagen (C). Rote Markierung: Verdeutlichung der Entstehung der Z-Konformation neben der E-Konformation.

Im zweiten Ansatz wurde die Stabilität der DMSO Stammlösung der Verbindung **198** untersucht. Dazu wurde eine  $10^{-5}$  Verdünnung der alten Stammlösung, welche zur Erhebung der biologischen Daten diente, sowie einer frisch hergestellten Stammlösung in Methanol angefertigt und im UV/Vis Spektrometer vermessen. Die Abbildung 5.23 zeigt das UV/Vis Spektrum der untersuchten Stammlösungen mit den, für Chalkone typischen, zwei Absorptionsbanden. Im Vergleich der maximalen Absorption (ca. 0,6) bei 360 nm konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Dieses Ergebnis spricht ebenfalls für die Stabilität der Verbindung in DMSO als Lösungsmittel. Da die Stammlösungen während der Vorbereitung und Durchführung der zellbiologischen Assays kaum dem Licht ausgesetzt waren, war in diesem Zeitrahmen keine Isomerisierung zu erwarten.

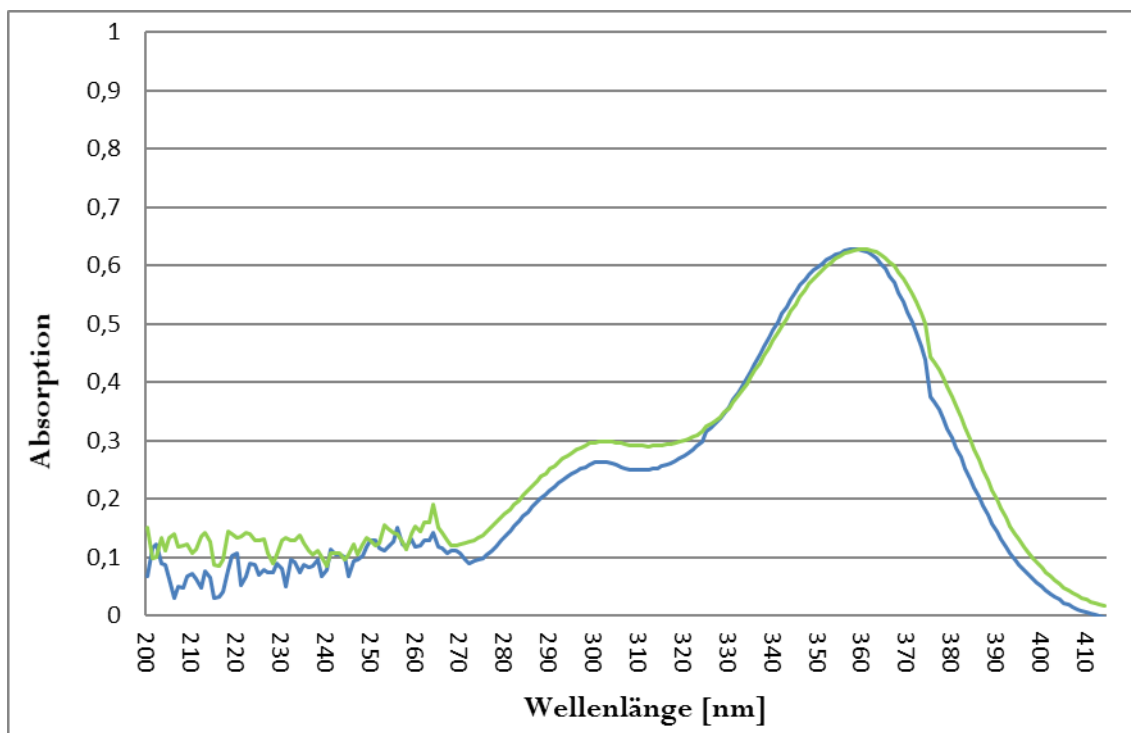


Abbildung 5.23: UV/Vis Spektrum der Verbindung **198**. Blaue Linie: alte DMSO Stammlösung in MeOH. Grüne Linie: neue DMSO Stammlösung in MeOH.

Die exemplarischen Untersuchungen zur Stabilität der Verbindung **198** gegenüber Isomerisierung bedingt durch Lichteinwirkung, war neben der Isolierung als reines *E*-Isomer auch im Zuge der biologischen Testung keine Veränderungen zu erwarten.

## 6 Zusammenfassung

Multidrug Resistenz (MDR) von Krebszellen, verursacht durch eine gesteigerte Expression von ABC Transportern, zählt zu den Gründen für das Scheitern einer Chemotherapie. Die Entwicklung potenter und selektiver Inhibitoren jener Transportproteine könnte eine Schlüsselrolle in der Überwindung der MDR einnehmen und so die Effizienz von Chemotherapien steigern. Ziel dieser Arbeit waren das Design und die Synthese einer Substanzbibliothek neuer strukturell unterschiedlicher Chalkon-Derivate als ABCG2 Inhibitoren. Insgesamt wurden 129 Derivate synthetisiert, welche in die drei Stoffklassen Pyrazole, Acryloylphenylcarboxamide und Chinazolin-Chalkone unterteilt sind.

Weiterhin wurden eine Reihe zellbasierter Assays zur Charakterisierung der synthetisierten Verbindungen in Hinblick auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2, der Affinität zu ABCB1 und ABCC1, Evaluierung der intrinsischen Zytotoxizität und Effektivität die MDR zu überwinden, durchgeführt.

In dem ersten Teilprojekt wurde die  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylpartialstruktur des Chalkons durch Einbettung eines Heterozyklus in die Grundstruktur aufgehoben. Anhand dessen sollte ermittelt werden, ob die Beibehaltung der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylkomponente oder die Überführung in heterozyklische Derivate als unterstützend anzusehen ist. In diesem Sinne entstanden 25 Vertreter mit Zugehörigkeit zur Klasse der Pyrazole. Diese wurden sowohl auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 als auch auf Selektivität und Toxizität untersucht. Als optimale Syntheseroute erwies sich die Reaktion von Benzochalkonen zu Pyrazolen, über Benzoflavone als Zwischenstufe. Dazu erfolgte zunächst eine Claisen-Schmidt Kondensation zwischen den entsprechenden Acetophenonen und unterschiedlich substituierten Aldehyden. Die folgende Zyklisierung zum Benzoflavin ermöglichte die Aufrechterhaltung der Doppelbindung bei abschließender Ausbildung des Heterozyklus mittels Hydrazin. Begründet im Einsatz von 2-Acetyl-1-naphthol sowie 1-Acetyl-2-naphthol entstanden zwei Serien von Pyrazolen. Dabei diente die Serie der 2-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole zunächst zum Herausfiltern potentieller Substituenten am Ring B. Die Verbindung **57**, substituiert mit 3,4-Dimethoxy, erzielte die

höchste inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2. Dagegen zeigten die übrigen Vertreter nur eine sehr schwache Tendenz ABCG2 zu hemmen.

In der zweiten Serie, den 1-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-olen, war ein eindeutiger Anstieg der inhibitorischen Wirkung zu verzeichnen, was auf den Einfluss der Stellung des Naphthoylrest zum Pyrazolring hinweist. Keines der synthetisierten Derivate zeigte einen signifikanten Einfluss auf die Hemmung der Funktion von ABCC1, jedoch eine erhöhte Affinität zu ABCB1, welche in der Anwesenheit von Methoxygruppen begründet lag. Als potentester ABCG2 Inhibitor stellte sich Verbindung **70** heraus, verdeutlicht durch einen  $IC_{50}$ -Wert von 0,391  $\mu\text{mol/l}$  im Pheophorbid A Assay. Des Weiteren zeigte die Verbindung nur eine geringe intrinsische Zytotoxizität und keine signifikante Hemmwirkung gegenüber ABCB1 und ABCC1. Obwohl die Pyrazole aufgrund ihres breitgefächerten Wirkspektrums zu einem wichtigen Bestandteil der Medizinischen Chemie zählen, konnte für die Entwicklung hochpotenter ABCG2 Inhibitoren kein Vorteil aus dieser Form der Derivatisierung gezogen werden. Dennoch brachte dieses Projekt durchaus moderate Inhibitoren hervor und es konnten Erkenntnisse für die Variationen am Ring A und B des Chalkons gewonnen werden.

In dem zweiten Teilprojekt erfolgten das Design und die Synthese der Acryloylphenylcarboxamide. Dazu erfolgte die Verknüpfung der typischen Chalkonstruktur mit einem dritten variablen aromatischen Rest über einen Amidlinker. Anhand von Struktur-Wirkungs-Beziehungen sollte der Vorteil einer Molekülerweiterung bzw. die Einführung einer Amidgruppe evaluiert sowie das optimale Substitutionsmuster am Ring A und B identifiziert werden. Die Synthese der Acryloylphenylcarboxamide ging ebenfalls von einer Claisen-Schmidt Kondensation zur Darstellung des Chalkons aus. Zur Ausbildung des Amidlinkers wurden Aminoacetophenone eingesetzt, wodurch am Chalkon eine Aminogruppe in *ortho*, *meta* oder *para* Position vorlag. Jener Aminorest wurde mit verschiedenen substituierten Säurechloriden acetyliert.

Ziel der ersten Serie an Vertretern war die Ermittlung der optimalen Amidlinkerposition am Ring A des Chalkons und des Substitutionsmusters am Carboxamid. Im Zuge dessen wurden 35 Verbindungen synthetisiert, inklusive struktureller Modifikation in Position 2', 3' und 4' am Ring A (Amidlinker) und Position 3 und 4 am Ring B des Chalkons. Die Ergebnisse der biologischen Testung demonstrierten einen überlegenen Effekt der *ortho*-Substitution des Amidlinker und darüber hinaus, den aktivitätssteigernden Einfluss von Dimethoxygruppen am Ring B des Chalkons. Weiterhin steigerten ein unsubstituierter Phenylrest, 2-Thienyl sowie 3-Chlorphenyl am Carboxamid die Hemmwirkung.



Die Verbindung **124** stellte sich als potentester Inhibitor heraus. Er vereint eine 3,4-Dimethoxy-Substitution am Ring B, den Amidlinker in *ortho*-Position und einen Thiophenring als Amidrest. Gegenüber den anderen beiden MDR-relevanten ABC Transportern, ABCB1 und ABCC1, wurde keine signifikante Affinität ermittelt. Dazu zeigte die Verbindung **124** im MTT Assay keine Zytotoxizität und vermag die MDR gegenüber dem Zytostatikum SN-38 aufzuheben.

Die zuvor ermittelten Daten dienten als Grundlage für die weiterführende Entwicklung und Optimierung innerhalb der zweiten Serie an Derivaten (24 Verbindungen). Um die Aktivität der Acryloylphenylcarboxamide zu steigern und detailliertere Erkenntnisse über die Struktur-Wirkungs-Beziehung zu erhalten, wurde im Zuge der zweiten Serie der Ring A des Chalkons durch Einführung einer Mono(Position 4')- und Di(Position 4',5' und 4',6')-substitution mit Methoxygruppen variiert. Dies resultierte überwiegend in einer Erhöhung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2. Weiterhin zeigte sich im Vergleich zu den Analoga der ersten Serie, dass sich die 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide überwiegend im submikromolaren Konzentrationsbereich selektiv gegenüber ABCG2 verhielten. Die Pyridin-Vertreter **134** und **135** sowie die zusätzlich mit einer weiteren Methoxygruppe (am Carboxamid) substituierte Verbindung **133** wiesen eine gesteigerte Affinität zu ABCB1 auf. Neben der hochpotenten inhibitorischen Aktivität im submikromolaren Bereich, der geringen Affinität zu ABCB1 und ABCC1 sowie einer geringen Zytotoxizität stellte sich die Verbindung **129** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,219 µmol/l innerhalb dieser Arbeit als vielversprechendster Kandidat für weiterführende *in vivo* Untersuchungen heraus. Außerdem konnte die Aufhebung der Resistenz von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38 nachgewiesen werden. Hingegen führte die Einführung einer weiteren Methoxygruppe in Position 5' bzw. 6' am Ring A zu einer verminderten Aktivität und wurde somit nicht weiterverfolgt. Ebenfalls wurde der Austausch der 3,4-Dimethoxysubstitution am Ring B gegen 3,5-Dimethoxy als nicht signifikante Verbesserung eingestuft. Um die Interaktion zwischen Acryloylphenylcarboxamiden und ABCG2 näher zu untersuchen, wurden diese weiterführend auf ihren Einfluss gegenüber der Vanadat-sensitiven ATPase Aktivität von ABCG2 untersucht. Obwohl sie eine gesteigerte ATPase Aktivität im Vergleich zur Basalen aufwiesen, werden sie selbst nicht transportiert und sind somit als Inhibitoren zu klassifizieren. Dennoch konnte aus dem Assay die Abhängigkeit des Ausmaßes einer gesteigerten ATPase Aktivität von der Position der Methoxygruppen (am Ring A und B) abgeleitet werden. Zusammenfassend kristallisierten sich die 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide als hochpotente und nahezu selektive Klasse von neuen ABCG2 Inhibitoren heraus. Um die Amidgruppe als eindeutig essentielles Strukturelement zu bestätigen, wurde eine Gruppe von 6 Acryloylphenylcarboxylaten

synthetisiert, wobei die Amid- durch eine Esterfunktion ausgetauscht wurde. Die Verbindungen demonstrierten ferner eine moderate Inhibition von ABCG2, zeigten aber im direkten Vergleich eine herabgesetzte Aktivität.

Dieser Effekt resultiert höchstwahrscheinlich aus dem Verlust der Donor-Akzeptorfunktion sowie der Planarität der Struktur. Zusammenfassend zeigte die Entwicklung der Acryloylphenylcarboxamide, dass die Ergänzung der Chalkonstruktur mit einem zusätzlich am Ring A verknüpften aromatischen Rest zu potenten, nahezu selektiven und nicht toxischen ABCG2 Inhibitoren führt.

In dem dritten Teilprojekt, welches in Zusammenarbeit mit Katja Stefan entstand, wurden zwei Klassen von bekannten ABCG2 Inhibitoren kombiniert. Dazu erfolgte die Heterodimerisierung der Chinazolin- und Chalkongrundstruktur unter Ausbildung eines Aminolinkers. Neben dem Ziel der Steigerung der inhibitorischen Aktivität der Chalkone sollte die gegenseitige Beeinflussung der beiden Strukturelemente eingehend untersucht werden. Abhängig vom Substitutionsmuster in Position 2, 4, 6 und 7 des Chinazolins, der *meta* bzw. *para* Position des Acryloylrestes (Ring A) und am Ring B des Chalkons ergab sich eine umfangreiche Serie von 34 Chinazolin-Chalkonen. Die Synthese startete mit dem Aufbau des 4-Chinazolinones, welches im weiteren Verlauf zum 4-Chlorochinazolin umgewandelt wurde. Durch den Einsatz von 3'- bzw. 4'-Aminoacetophenon wurde die Bildung der Chinazolinpartialstruktur abgeschlossen und die Kondensation mit unterschiedlich substituierten Benzaldehyden zum Chalkon vorbereitet. Die Kombination aus dem Chinazolin- und Chalkon-Grundgerüst resultierte in hochpotenten ABCG2 Inhibitoren mit IC<sub>50</sub>-Werten im submikromolaren Konzentrationsbereich.

Im Zuge der Optimierung der Struktur wurden die folgenden Substitutionsmuster hinsichtlich ihres Einflusses auf die inhibitorische Aktivität beurteilt:

1. Substitution in Position 2 des Chinazolin-Grundgerüsts durch Phenyl bzw. 3,4-Dimethoxyphenyl
2. Methoxygruppen in Position 6,7 des Chinazolins sind nicht maßgeblich
3. *para*-Acryloylphenylrest am Ring A des Chalkons präferiert
4. Methoxysubstitution, bevorzugt Dimethoxy, am Ring B des Chalkons

Weiterhin zeigte die Mehrheit der Derivate nur eine geringe Affinität zu ABCB1 und keine Affinität zu ABCC1. Ausnahmen bildeten die Verbindungen **187**, **189** und **194**, für die eine höhere Aktivität gegenüber ABCB1 ermittelt wurde als es bei ABCG2 der Fall war. Die Verbindung **205** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,190 µmol/l wurde innerhalb der Chinazolin-Chalkone als potentester

Vertreter identifiziert und zeichnet sich zudem durch Selektivität und fehlende Zytotoxizität aus. Des Weiteren erfolgten eingehende Untersuchungen ausgewählter Verbindungen zur Beeinflussung der ATPase Aktivität. Dies resultierte in einer überwiegenden Stimulation der ATPase. Um das Vorliegen eines möglichen Transportes der Verbindungen auszuschließen, wurden Fluoreszenz-basierte Assays durchgeführt, welche die Annahme widerlegten. Die Notwendigkeit, nicht toxische Wirkstoffe zu entwickeln, welche die Effluxfunktion der ABC Transporter zu hemmen vermögen und so die Effizienz einer Chemotherapie steigern, wird zunehmend relevanter. Zusammenfassend wurde eine neue Klasse effektiver ABCG2 Inhibitoren aus der Kombination zweier bereits erprobter Leitstrukturen entwickelt. Zur weiterführenden Analyse der Struktur der Chinazolin-Chalkone wurde eine zusätzliche Reihe an Derivaten mit Variationen am Ring B des Chalkons ohne Methoxygruppen und Austausch des Phenylringes in Position 2 des Chinazolines durch Cyano- oder Nitrophenyl synthetisiert. In beiden Fällen wurde ein drastischer Verlust der inhibitorischen Aktivität beobachtet, was sich konträr zu den Ergebnissen der Chinazoline verhielt [184]. Dennoch konnten daraus zwei wichtige Erkenntnisse gewonnen werden: Erstens sind die Methoxygruppen am Ring A maßgeblich für die erhöhte Affinität zu ABCG2 verantwortlich und zweitens ist die Beeinflussung beider Stoffklassen untereinander enorm.

Rückblickend verweisen die Ergebnisse dieser Arbeit auf das hohe Potential der Chalkon-Derivate, ABCG2 zu inhibieren und verleihen somit dieser Stoffklasse ihre Daseinsberechtigung in der Liga der relevanten ABCG2 Inhibitoren. Die Beibehaltung der Grundstruktur der Chalkone, die Disubstitution mit Methoxygruppen am Ring B sowie die Variationen am Ring B können als Grundlage für die weiterführende Entwicklung von Inhibitoren dienen.

Zukunftsblickend ist meine Empfehlung für die Darstellung neuartige Chalkon-Derivate und in diesem Zuge die Optimierung als ABCG2 Inhibitoren, sich auf Modifikationen am Ring A der Partialstruktur zu fokussieren. Insbesondere die Kombination mit heterozyklischen Komponenten und Erweiterung der Molekülgröße scheint vielversprechende Auswirkungen auf die Struktur-Wirkungs-Beziehung zu haben.



# 7 Experimenteller Teil

## 7.1 Synthese

### 7.1.1 Allgemeine Materialien und Methoden

#### Chemikalien

Die in den Synthesen verwendeten Chemikalien wurden über Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland), Acros Organics (Geel, Belgien), Merck (Darmstadt, Deutschland) oder Alfa Aesar (Karlsruhe, Deutschland) bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

#### Dünnschichtchromatographie

Während und nach der Reaktion wurde die Vollständigkeit der Umsetzung bzw. Reinheit mittels analytischer Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Dazu erfolgte die Auftragung der Substanzen auf die stationäre Phase, eine mit Kieselgel beschichteten Aluminiumplatte des Typs 60 F<sub>254</sub> (Merck, Darmstadt). Als mobile Phase bzw. Fließmittelgemisch diente in der Regel Dichlormethan/Methanol (9:1) oder Cyclohexan/Ethylacetat (2:8). Zur Detektion wurde ein UV-Kabinett mit den Wellenlängen 254 und 366 nm verwendet.

#### Säulenchromatographie

Einige Verbindungen erforderten eine säulenchromatographische Aufreinigung. Dazu wurden Glassäulen unterschiedlicher Größe abhängig von der Menge des zu reinigenden Stoffes verwendet und mit Kieselgel 60 (40-63 µm Korngröße, Merck) als stationäre Phase gepackt.

#### Mikrowellensynthesen

Die Mikrowellensynthesen wurden mit Hilfe der CEM Discover-SP W/ACTIVENT Mikrowelle (Kamp-Lintfort, Deutschland) durchgeführt.

### NMR-Spektroskopie

Die Strukturaufklärung synthetisierter Verbindungen erfolgte mittels NMR-Spektroskopie.  $^1\text{H}$ -NMR und  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektren wurden am Bruker Advance 500 MHz NMR Spektrometer bei 500 MHz ( $^1\text{H}$ ) oder 126 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) bzw. am Bruker Advance 600 MHz Spektrometer ( $^1\text{H}$ : 600 MHz/ $^{13}\text{C}$ : 151 MHz) aufgenommen. Als Lösungsmittel diente DMSO- $\text{d}_6$ . Kopplungskonstanten  $J$  (Hz) und Verschiebungen (ppm) sind bezogen auf den Standard DMSO- $\text{d}_6$ . Die Signalaufspaltung ist mit folgenden Abkürzungen innerhalb der Spektren angegeben: s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, dt = Dublett vom Triplett, t = Triplett, td = Triplett vom Dublett, q = Quartett und m = Multiplett.

### Elementaranalyse (EA)

Zur Bestätigung der Reinheit synthetisierter Zielstrukturen wurde eine Elementaranalyse mit dem Gerät „Elementar Vario EL V24“ der Firma Elementar Analysensysteme (Hanau, Deutschland) durchgeführt. Die ermittelten Werte für Kohlenstoff, Stickstoff und Wasserstoff sind in Prozent angegeben und befinden sich innerhalb  $\pm 0,4 \%$  des theoretischen Wertes, sofern nicht anders angegeben.

### LC-MS

In einigen Fällen erfolgte die Bestimmung der Reinheit über eine LC-MS Methode, mit einem an ein API 2000 Massenspektrometer (Elektronensprayionisation, Applied Biosystems, Darmstadt) gekoppeltes Agilent 1100 HPLC-System (Agilent, Böblingen). Zur Probenvorbereitung wurde die zu untersuchende Substanz in Methanol oder Acetonitril gelöst, um so eine Lösung der Konzentration 1 mg/ml herzustellen. Im Folgenden wurden 8  $\mu\text{l}$  dieser Lösung in das HPLC-System injiziert und über eine Macherey-Nagel EC50/2 Nucleodur C18 Gravity 3  $\mu\text{m}$  Säule chromatographiert. Die Messung der UV-Absorption wurde mittels eines Dioden-Array-Detektors (DAD) in einem Wellenlängenbereich von 190-900 nm durchgeführt.

### Schmelzpunkt

Die Vermessung der Schmelzpunkte erfolgte mit einem „Melting Point Apparatus model SMP3“ Gerät der Firma Stuart.

## UV/Vis Spektroskopie

Zur Aufnahme der UV/Vis-Spektren wurde das UV/Visible Spektrophotometer Ultrospec 4000 der Firma Pharmacia Biotech verwendet.

### 7.1.2 Allgemeine Bemerkungen

Die in dieser Arbeit entstandenen Chalkon-Derivate wurden ausnahmslos in der *E*-Konfiguration isoliert und sind als solche gekennzeichnet. Im  $^1\text{H}$  NMR lassen sich zumeist zwei charakteristische Dubletts im Bereich von 7-8 ppm mit einer für „*E*“ spezifischen Kopplungskonstante von 15-16 Hz identifizieren. Teilweise entstand jedoch ein Spektrum höherer Ordnung und die Aufspaltung ging verloren. Dennoch sind die Dubletts unter den entsprechenden Multipletts zu erkennen.

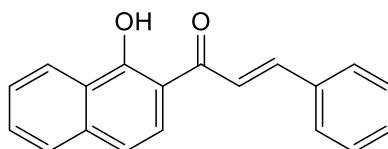
Verbindungen, welche mit dem zusätzlichen Kürzel „KCJ“ gekennzeichnet sind, wurden innerhalb des Arbeitskreises durch Kapil Juvale synthetisiert.

### 7.1.3 Synthesevorschriften und Monographien

#### 7.1.3.1 Darstellung der Benzochalkone

Zu einer Mischung des ausgewählten Acetophenones (2-Acetyl-1-naphthol oder 1-Acetyl-2-naphthol, 1 äquiv.) und dem jeweiligen Aldehyd (1 äquiv.) in 30 ml MeOH wurde LiOH, als Basenkatalysator, hinzugefügt (7 äquiv.). Daraufhin erfolgte die Umsetzung im Ultraschallbad bei 25 °C für 4-5 h. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegeben und mit verdünnter HCl angesäuert. Das so erhaltene Produkt wurde abfiltriert, mit viel Wasser neutral gewaschen, aus EtOH/H<sub>2</sub>O (1:1) umkristallisiert und im Vakuum getrocknet.

#### 1 (E)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-phenylprop-2-en-1-on (STK 22)



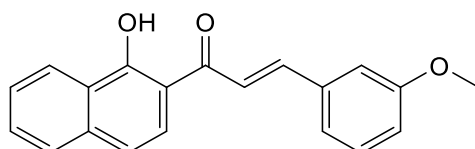
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (0,931g; 5 mmol) und Benzaldehyd (0,531g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Farbstoff isoliert (Ausbeute: 38 %).

Summenformel:  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_2$

Molekulargewicht: 274,31 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 14.99 (s, 1H), 8.37 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.30 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.18 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.97 (dd, *J* = 5.8, 3.7 Hz, 3H), 7.93 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.74 – 7.70 (m, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.50 – 7.48 (m, 3H), 7.45 ppm (d, *J* = 8.9 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.70, 163.45, 145.38, 137.24, 134.62, 131.19, 130.60, 129.46 (2C), 129.09 (2C), 127.75, 126.29, 125.21, 124.65, 123.81, 121.26, 118.34, 113.51 ppm.

**2 (E)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 25)**



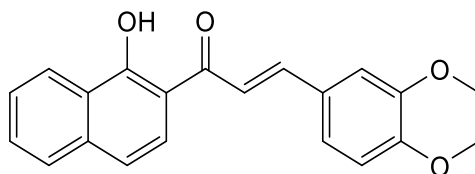
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (1,36 g; 10 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 23 %).

Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 304,34 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 15.01 (s, 1H), 8.38 – 8.35 (m, 1H), 8.32 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.17 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.75 – 7.70 (m, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.58 – 7.56 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.42 – 7.37 (m, 1H), 7.09 – 7.05 (m, 1H), 3.85 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.79, 163.43, 159.87, 145.48, 137.27, 136.01, 130.66, 130.14, 127.78, 126.34, 125.26, 124.62, 123.82, 122.40, 121.46, 118.39, 117.38, 113.88, 113.51, 55.54 ppm.

**3 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 5)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (1,66 g; 10 mmol) synthetisiert und als rote Kristalle isoliert (Ausbeute: 47 %).

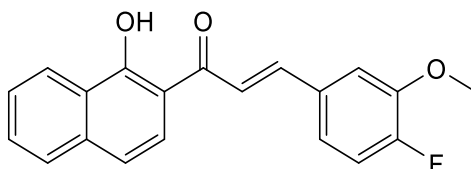
Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 334,37 g/mol



**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 15.23 (s, 1H), 8.36 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.95 – 7.91 (m, 2H), 7.74 – 7.70 (m, 1H), 7.63 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.49 – 7.44 (m, 2H), 7.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.83 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.61, 163.33, 152.01, 149.28, 146.18, 137.14, 130.48, 127.75, 127.49, 126.26, 125.22, 125.05, 124.69, 123.77, 118.45, 118.21, 113.49, 111.77, 111.28, 56.01, 55.81 ppm.

**4 (E)-3-(4-Fluor-3-methoxyphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 26)**



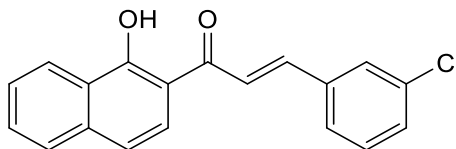
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 3,4-Difluorbenzaldehyd (1,42 g; 10 mmol) synthetisiert und als hell-oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 33 %). Unter den definierten Reaktionsbedingungen und MeOH als Lösungsmittel erfolgt neben der eigentlichen Claisen-Schmidt Kondensation eine Williamson-Ethersynthese, wobei der Fluorrest in meta-Position durch eine Methoxygruppe substituiert wurde.

Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>FO<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 322,33 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 15.09 (s, 1H), 8.36 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 8.04 (dd, *J* = 12.8, 2.0 Hz, 1H), 7.94 – 7.88 (m, 2H), 7.75 – 7.69 (m, 2H), 7.62 – 7.57 (m, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.91 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.53, 163.39, 151.79 (d, *J* = 244.5 Hz), 149.8 (d, *J* = 10.9 Hz), 144.48, 137.20, 130.55, 128.00 (d, *J* = 2.3 Hz), 127.88 (d, *J* = 6.9 Hz), 127.74, 126.27, 125.21, 124.64, 123.78, 119.99, 118.28, 115.54 (d, *J* = 18.5 Hz), 113.96, 113.49, 56.38 ppm.

**5 (E)-3-(3-Chlorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 15)**



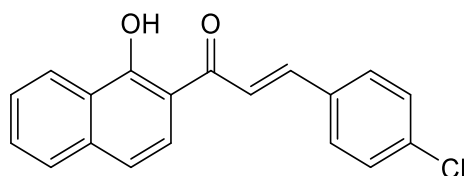
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 3-Chlorbenzaldehyd (1,4 g; 10 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 16 %).

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>ClO<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 308,76 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 14.92 (s, 1H), 8.36 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.95 – 7.87 (m, 3H), 7.73 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.54 – 7.48 (m, 2H), 7.46 ppm (d, *J* = 8.9 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 194.00, 163.82, 144.02, 137.66, 137.18, 134.38, 131.21, 131.08, 131.04, 128.89, 128.75, 128.13, 126.72, 125.62, 124.89, 124.18, 123.14, 118.79, 113.86 ppm.

**6 (E)-3-(4-Chlorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 8)**



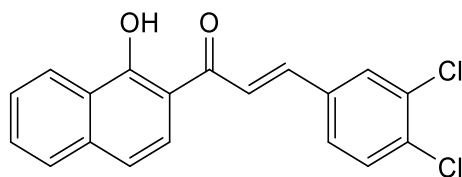
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 4-Chlorbenzaldehyd 0,703 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>ClO<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 308,76 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 14.95 (s, 1H), 8.38 – 8.35 (m, 1H), 8.30 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.20 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 8.03 – 8.00 (m, 2H), 7.95 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.75 – 7.71 (m, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 1H), 7.57 – 7.54 (m, 2H), 7.46 ppm (d, *J* = 8.9 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.63, 163.45, 143.91, 137.28, 135.73, 133.60, 131.15 (2C), 130.69, 129.15 (2C), 127.77, 126.35, 125.20, 124.60, 123.82, 122.01, 118.41, 113.51 ppm.

**7 (E)-3-(3,4-Dichlorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 21)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 3,4-Dichlorbenzaldehyd (0,875 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 38 %).

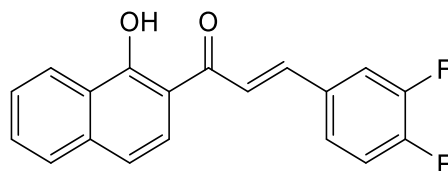
Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 343,20 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 14.67 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.26 (dd, *J* = 13.5, 5.5 Hz, 2H), 8.19 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.94 – 7.84 (m, 3H), 7.74 – 7.68 (m, 2H), 7.63

– 7.56 (m, 1H), 7.43 ppm (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 193.19, 163.20, 141.84, 137.06, 135.28, 132.95, 131.80, 130.79, 130.26, 130.21, 129.09, 127.37, 125.91, 124.89, 124.48, 123.54 (2C), 117.99, 113.39 ppm.

**8 (E)-3-(3,4-Difluorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 37)**



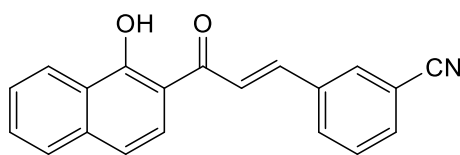
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 3,4-Difluorbenzaldehyd (1,42 g; 10 mmol) in Tetrahydrofuran synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 38 %).

Summenformel:  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{O}_2$

Molekulargewicht: 310,29 g/mol

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 14.91 (s, 1H), 8.36 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 8.30 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 8.24 – 8.20 (m, 1H), 8.17 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H), 7.91 (dd,  $J = 14.4, 11.8$  Hz, 2H), 7.82 – 7.78 (m, 1H), 7.75 – 7.71 (m, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.57 – 7.51 (m, 1H), 7.46 ppm (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 193.54, 163.49, 151.50 (dd,  $J = 143.2, 13.0$  Hz), 149.52 (dd,  $J = 137.9, 13.0$  Hz), 143.06, 137.31, 132.58 (q,  $J = 6.3, 3.7$  Hz), 130.73, 127.78, 127.53 (q,  $J = 6.3, 3.7$  Hz), 126.37, 125.19, 124.57, 123.83, 122.51, 118.44, 118.17 (d,  $J = 17.5$  Hz), 117.49 (d,  $J = 17.7$  Hz), 113.48 ppm.

**9 (E)-3-(3-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)benzonitril (STK 19)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol und 3-Cyanobenzaldehyd synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 24 %).

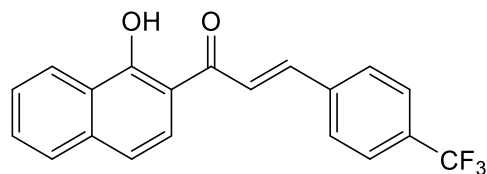
Summenformel:  $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{NO}_2$

Molekulargewicht: 299,32 g/mol

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 14.86 (s, 1H), 8.56 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 8.37 – 8.34 (m, 1H), 8.31 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 8.30 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 8.26 – 8.20 (m, 1H), 7.96 – 7.88 (m, 3H), 7.73 (m, 1H), 7.67 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.46 ppm (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 193.48, 163.51, 142.76, 137.30, 135.84, 134.22, 133.88,

132.28, 130.74, 130.22, 127.75, 126.35, 125.16, 124.51, 123.81, 123.51, 118.53, 118.43, 113.48, 112.32 ppm.

**10 (E)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(4-(trifluormethyl)phenyl)prop-2-en-1-on (STK 34)**



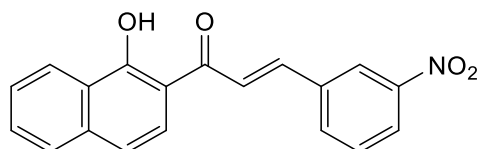
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 4-(Trifluormethyl)benzaldehyd (1,74 g; 10 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 12 %).

Summenformel:  $C_{20}H_{13}F_3O_3$

Molekulargewicht: 342,31 g/mol

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 14.85 (s, 1H), 8.36 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.32 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 8.30 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H), 8.18 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 7.98 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.83 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.73 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.47 ppm (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H).  **$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 193.61, 163.53, 143.27, 138.60, 137.36, 130.81, 130.41 (q,  $J$  = 31.9 Hz), 129.99 (2C), 127.81, 126.43, 125.88 (q,  $J$  = 3.6 Hz; 2C), 125.23, 124.56, 124.18 (q,  $J$  = 272.3 Hz), 124.02, 123.87, 118.54, 113.54 ppm.

**11 (E)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(3-nitrophenyl)prop-2-en-1-on (STK 12)**



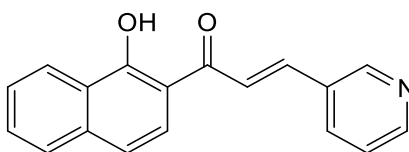
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 3-Nitrobenzaldehyd (0,756 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 31 %).

Summenformel:  $C_{19}H_{13}NO_4$

Molekulargewicht: 319,31 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 14.85 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.45 – 8.35 (m, 4H), 8.29 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 8.06 (d,  $J$  = 15.3 Hz, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.76 (m, 2H), 7.62 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.48 ppm (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 193.63, 163.50, 148.64, 142.80, 137.35, 136.49, 135.63, 130.81, 130.53, 127.80, 126.41, 125.33, 125.15, 124.52, 124.14, 123.85, 123.51, 118.48, 113.54 ppm.

## 12 (E)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-en-1-on (STK 29)



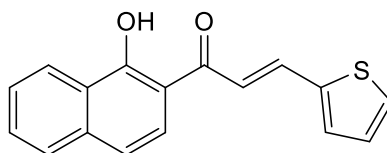
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 3-Pyridincarboxaldehyd (0,536 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 41 %).

Summenformel:  $C_{18}H_{13}NO_2$

Molekulargewicht: 275,30 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 14.89 (s, 1H), 9.09 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 8.64 (dd,  $J$  = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 8.44 (dt,  $J$  = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 8.37 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 8.32 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 8.30 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 7.97 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.76 – 7.71 (m, 1H), 7.63 – 7.59 (m, 1H), 7.52 (dd,  $J$  = 8.0, 4.7 Hz, 1H), 7.47 ppm (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H).  
 **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 193.47, 163.54, 151.49, 150.86, 141.93, 137.33, 135.64, 130.75, 130.47, 127.79, 126.39, 125.21, 124.59, 124.09, 123.85, 123.17, 118.47, 113.47 ppm.

## 13 (E)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(thiophen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 28)



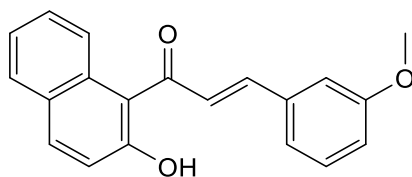
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Acetyl-1-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 2-Thiophencarboxaldehyd (0,561 g; 5mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 35 %).

Summenformel:  $C_{17}H_{12}O_2S$

Molekulargewicht: 280,34 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 15.01 (s, 1H), 8.38 – 8.34 (m, 1H), 8.19 – 8.16 (m, 1H), 8.12 (d,  $J$  = 15.1 Hz, 1H), 7.92 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.87 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 7.84 – 7.79 (m, 2H), 7.74 – 7.70 (m, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.44 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.23 ppm (dd,  $J$  = 5.0, 3.6 Hz, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 193.03, 163.25, 139.74, 138.06, 137.18, 133.69, 131.83, 130.57, 129.06, 127.76, 126.31, 124.97, 124.64, 123.79, 119.31, 118.42, 113.38 ppm.

14 (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on  
(STK 4)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (0,68 g; 5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 26 %).

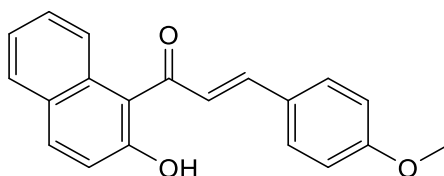
Summenformel:  $C_{20}H_{16}O_3$

Molekulargewicht: 304,34 g/mol

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.24 (s, 1H), 7.90 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 7.85 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.44 – 7.40 (m, 1H), 7.34 – 7.30 (m, 2H), 7.30 – 7.28 (m, 1H), 7.26 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 7.25 – 7.22 (m, 3H), 6.98 – 6.96 (m, 1H), 3.76 ppm (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.85, 160.11, 153.49, 144.41, 136.31, 131.96, 131.70, 130.43, 129.56, 128.67, 128.12, 127.64, 123.72, 123.58, 121.57, 120.47, 118.86, 117.39, 113.48, 55.72 ppm.

15 (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on  
(STK 33)



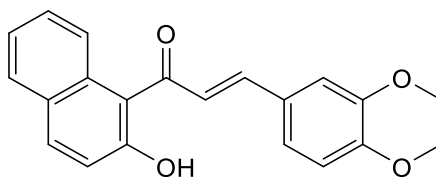
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (0,68 g; 5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 80 %).

Summenformel:  $C_{20}H_{16}O_3$

Molekulargewicht: 304,34 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.16 (s, 1H), 7.88 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.84 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.64 – 7.60 (m, 2H), 7.56 (dd,  $J = 8.4, 0.8$  Hz, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.29 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 7.25 – 7.22 (m, 1H), 7.10 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 6.97 – 6.92 (m, 2H), 3.78 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.34, 161.45, 152.92, 144.27, 131.67, 131.11, 130.56 (2C), 128.29, 127.77, 127.18, 127.04, 126.70, 123.46, 123.17, 120.38, 118.55, 114.61 (2C), 55.48 ppm.

**16 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)prop-2-en-1-on**  
(STK 9)



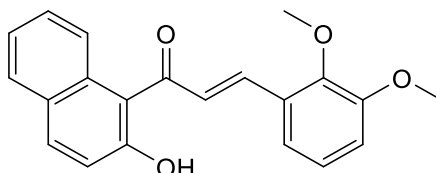
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (1,66 g; 10 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 69 %).

Summenformel:  $C_{21}H_{18}O_4$

Molekulargewicht: 334,37 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.11 (s, 1H), 7.88 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.54 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.43 – 7.38 (m, 1H), 7.33 – 7.28 (m, 2H), 7.27 – 7.23 (m, 2H), 7.18 (dd,  $J$  = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.15 (d,  $J$  = 16.0 Hz, 1H), 6.95 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.77 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.59, 152.69, 151.32, 149.16, 144.96, 131.68, 130.95, 128.29, 127.78, 127.28, 127.16, 126.93, 123.45, 123.27, 123.17, 120.51, 118.53, 111.77, 110.92, 55.75, 55.72 ppm.

**17 (E)-3-(2,3-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)prop-2-en-1-on**  
(STK 105)



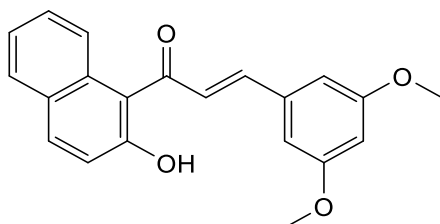
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 2,3-Dimethoxybenzaldehyd (0,83 g; 5 mmol) synthetisiert als roter Feststoff isoliert (Ausbeute: 58 %). Aufgrund der begünstigten und raschen Zyklisierung zum Benzoflavanon wurde nach vollständiger Umsetzung auf den Aufarbeitungsschritt mit Eiswasser und Ansäuern mit verdünnter HCl verzichtet. Das Produkt wurde direkt aus dem Reaktionsansatz abfiltriert und nur leicht mit Wasser gewaschen.

Summenformel:  $C_{21}H_{18}O_4$

Molekulargewicht: 334,37 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.23 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.68 (d,  $J$  = 1.5 Hz, 2H), 7.43 – 7.38 (m, 2H), 7.20 (dd,  $J$  = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 7.17 – 7.13 (m, 1H), 7.07 – 6.99 (m, 2H), 6.90 – 6.85 (m, 1H), 6.59 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 3.81 ppm (s, 3H), 3.76 (s, 3H). Die OH-Gruppe ist nicht sichtbar.  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 190.40, 175.82, 152.93, 147.44, 135.96, 133.56, 133.21, 130.33, 129.56, 128.96, 127.86, 126.20, 124.33, 124.23, 123.18, 118.88, 118.67, 116.96, 113.08, 60.82, 55.86 ppm.

**18 (E)-3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)prop-2-en-1-on (STK 107)**



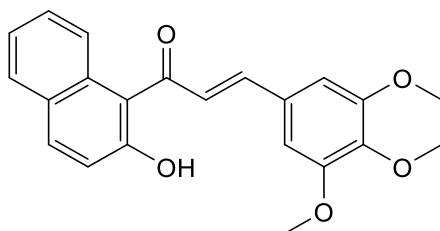
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 3,5-Dimethoxybenzaldehyd (0,83 g; 5 mmol) synthetisiert als roter Feststoff isoliert (Ausbeute: 76 %). Aufgrund der begünstigten und raschen Zyklisierung zum Benzoflavanon wurde nach vollständiger Umsetzung auf den Aufarbeitungsschritt mit Eiswasser und Ansäuern mit verdünnter HCl verzichtet. Das Produkt wurde direkt aus dem Reaktionsansatz abfiltriert und nur leicht mit Wasser gewaschen.

Summenformel:  $C_{21}H_{18}O_4$

Molekulargewicht: 334,37 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.24 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.68 (d,  $J$  = 15.7 Hz, 1H), 7.44 – 7.40 (m, 2H), 7.34 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.18 – 7.13 (m, 1H), 6.90 – 6.85 (m, 1H), 6.74 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 2H), 6.61 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 6.46 (t,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 3.76 (s, 6H). Die OH-Gruppe ist nicht sichtbar.  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 190.44, 175.78, 160.75 (2C), 138.74, 135.93, 134.92, 133.53, 132.78, 129.54, 127.85, 126.19, 124.32, 123.10, 118.87, 116.91, 105.59 (2C), 100.91, 55.35 (2C) ppm.

**19 (E)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 109)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd (0,98 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 56 %).

Summenformel:  $C_{22}H_{20}O_5$

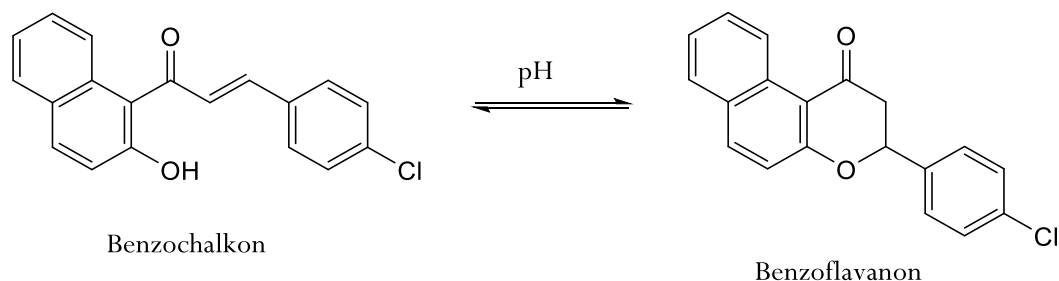
Molekulargewicht: 364,40 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.14 (s, 1H), 7.89 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.53 (dd,  $J$  = 8.3 Hz, 0.7, 1H), 7.44 – 7.39 (m, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 1H), 7.24 (dd,  $J$  = 5.0, 3.9 Hz, 3H), 7.00 (s, 2H), 3.78 (s, 6H), 3.67 ppm (s, 3H).  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,**



**DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.84, 153.24 (2C), 152.78, 144.92, 139.81, 131.69, 131.04, 130.08, 128.49, 128.31, 127.78, 127.20, 123.38, 123.19, 120.34, 118.55, 106.31 (2C), 60.24, 56.19 ppm (2C).

**20 (E)-3-(4-Chlorphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)prop-2-en-1-on (STK 7)**



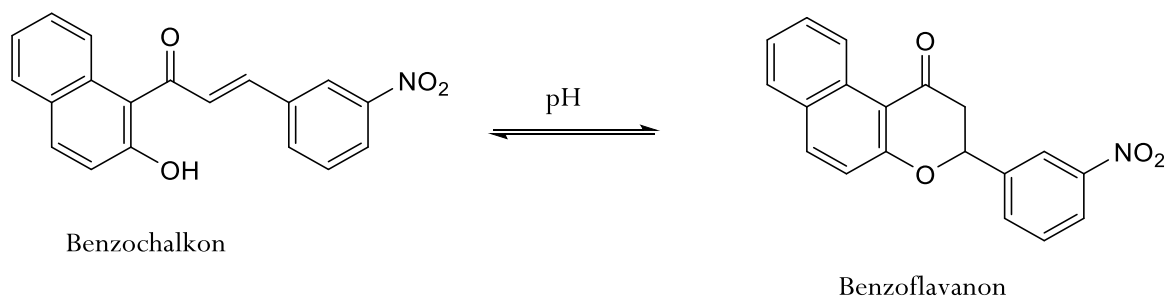
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 4-Chlorbenzaldehyd (1,4 g; 10 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 55 %). Aufgrund der begünstigten Zyklisierung des Benzochalkon zum Benzoflavanon während der Reaktion, lag das Produkt bei Isolierung als Gemisch vor, welches sich vom Verhältnis her auf der Seite des Benzochalkons befand. Aufgrund identischer Eigenschaften ließen sich die Verbindungen weder durch Umkristallisation noch Säulenchromatographie trennen, was aber im Zuge der Umsetzung zum Benzoflavanon mit Iod keine Rolle spielte. Das angegebene  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrum bezieht sich auf das Benzochalkon.

Summenformel:  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClO}_2$

Molekulargewicht: 308,76 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.30 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.74 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 7.60 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.44 – 7.40 (m, 4H), 7.37 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 7.19 – 7.13 (m, 1H), 6.92 – 6.87 (m, 1H), 6.61 ppm (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H). Die OH-Gruppe ist nicht sichtbar.  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 190.29, 175.84, 137.81, 135.96, 135.77, 133.62, 133.24, 132.92, 129.48, 129.31 (2C), 128.84 (2C), 127.86, 126.32, 124.40, 123.08, 118.97, 116.85 ppm.

**21 (E)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(3-nitrophenyl)prop-2-en-1-on (STK 30)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,466 g; 2,5 mmol) und 3-Nitrobenzaldehyd (0,378 g; 2,5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 79 %).

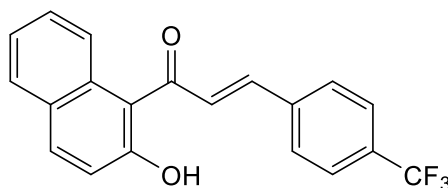
Aufgrund der begünstigten Zyklisierung des Benzochalkon zum Benzoflavanon während der Reaktion, lag das Produkt bei Isolierung als Gemisch vor, welches sich vom Verhältnis auf der Seite des Benzochalkons befand. Aufgrund identischer Eigenschaften ließen sich die Verbindungen weder durch Umkristallisation noch Säulenchromatographie trennen, was aber im Zuge der Umsetzung zum Benzoflavan mit Iod keine Rolle spielte. Das angegebene  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrum bezieht sich auf das Benzochalkon.

Summenformel:  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}_4$

Molekulargewicht: 319,31 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.51 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 8.36 (t,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 8.12 (dd,  $J = 7.8, 1.9$  Hz, 1H), 8.03 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 7.65 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.46 – 7.39 (m, 3H), 7.18 – 7.14 (m, 1H), 6.91 – 6.87 (m, 1H), 6.60 ppm (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H). Die OH-Gruppe ist nicht sichtbar.  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 189.94, 176.70, 148.47, 139.04, 137.91, 136.17, 135.55, 133.85, 131.40, 130.31, 129.66, 127.82, 126.48, 124.40, 122.96, 122.68, 121.48, 119.00, 116.53 ppm.

## 22 (E)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(4-(trifluormethyl)phenyl)prop-2-en-1-on (STK 6)



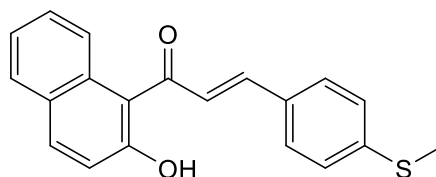
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (1,86 g; 10 mmol) und 4-(Trifluormethyl)benzaldehyd (1,74 g; 10 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 65 %).

Summenformel:  $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{O}_2$

Molekulargewicht: 342,31 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.43 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.88 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.79 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.70 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.43 – 7.39 (m, 3H), 7.18 – 7.14 (m, 1H), 6.91 – 6.86 (m, 1H), 6.61 ppm (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H).  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 189.96, 176.51, 141.12, 136.07, 135.35, 133.83, 132.29, 130.94, 129.62, 128.38, 128.10 (2C), 127.84, 126.43, 125.64 (d,  $J = 3.8$  Hz; 2C), 124.41, 123.02, 119.02, 116.66 ppm.

**23 (E)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(4-(methylthio)phenyl)prop-2-en-1-on (STK 18)**



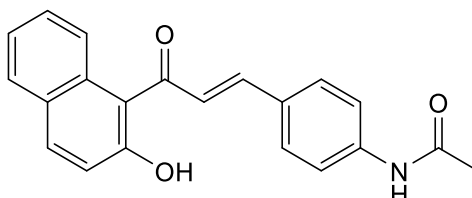
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 4-(Methylthio)benzaldehyd (0,76 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

Summenformel:  $C_{20}H_{16}O_2S$

Molekulargewicht: 320,40 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.20 (s, 1H), 7.89 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 3H), 7.44 – 7.39 (m, 1H), 7.34 – 7.28 (m, 2H), 7.24 (dd,  $J$  = 8.7, 2.7 Hz, 3H), 7.19 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.48 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.29, 153.07, 143.70, 142.14, 131.64, 131.32, 130.86, 129.17 (2C), 128.34, 127.88, 127.82, 127.27, 125.75 (2C), 123.45, 123.25, 120.26, 118.53, 14.28 ppm.

**24 (E)-N-(4-(3-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)phenyl)acetamid (STK 39)**



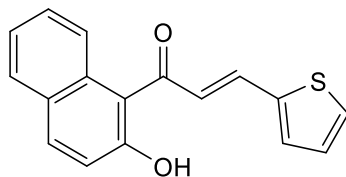
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 4-Acetamidobenzaldehyd (0,816 g; 5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %).

Summenformel:  $C_{21}H_{17}NO_3$

Molekulargewicht: 331,36 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.17 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 7.88 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.84 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.60 (s, 4H), 7.56 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.43 – 7.39 (m, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 1H), 7.28 – 7.23 (m, 2H), 7.12 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.05 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.40, 168.77, 152.91, 144.16, 141.69, 131.65, 131.17, 129.64 (2C), 129.01, 128.31, 127.79, 127.23 (2C), 123.45, 123.21, 120.32, 119.02 (2C), 118.52, 24.25 ppm.

25 (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(thiophen-2-yl)prop-2-en-1-on (STK 101)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-Acetyl-2-naphthol (0,931 g; 5 mmol) und 2-Thiophencarboxaldehyd (0,561 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %). Aufgrund der begünstigten Zyklisierung zum Benzoflavanon wurde nach vollständiger Umsetzung auf den Aufarbeitungsschritt mit Eiswasser und Ansäuern mit verdünnter HCl verzichtet. Das Produkt wurde direkt aus dem Reaktionsansatz abfiltriert und nur leicht mit Wasser gewaschen.

Summenformel:  $C_{17}H_{12}O_2S$

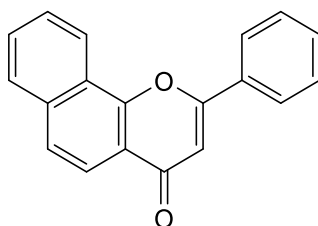
Molekulargewicht: 280,34 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.18 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.59 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 7.52 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 7.46 – 7.41 (m, 3H), 7.34 (dd,  $J$  = 3.6, 0.4 Hz, 1H), 7.19 – 7.14 (m, 1H), 7.08 (dd,  $J$  = 5.1, 3.6 Hz, 1H), 6.92 – 6.87 (m, 1H), 6.62 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H). Die OH-Gruppe ist nicht sichtbar.  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 189.91, 175.19, 141.93, 135.77, 133.53, 131.25, 129.45, 129.22, 128.43, 128.34, 127.92, 127.11, 126.25, 124.46, 123.14, 119.06, 116.85.

### 7.1.3.2 Darstellung der Benzoflavone

Das entsprechende Benzochalkon wurde in einem mikrowelleneigneten Gefäß in 5 ml DMSO gelöst und mit 3-5 Kügelchen Iod versetzt. Anschließend erfolgte die Umsetzung in der Mikrowelle bei 120 W und 130 °C für 35 min. Nach erfolgreicher Beendigung der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegeben und mit Natriumthiosulfatlösung versetzt. Das Produkt wurde nach 30-minütigem Rühren abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Letztlich erfolgte die Trocknung im Vakuum.

26 2-Phenyl-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 73)



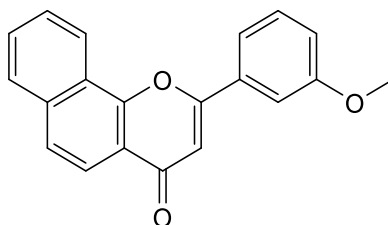
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-phenylprop-2-en-1-on (**1**; 0,300 g; 1,1 mmol) synthetisiert und nach Umkristallisation aus Ethanol als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 73 %).

Summenformel:  $C_{19}H_{12}O_2$

Molekulargewicht: 272,30 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.70 – 8.68 (m, 1H), 8.25 – 8.22 (m, 2H), 8.13 – 8.09 (m, 1H), 8.00 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.84 – 7.80 (m, 2H), 7.65 – 7.63 (m, 3H), 7.19 ppm (s, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 177.02, 162.15, 152.98, 135.63, 131.91, 131.39, 129.76, 129.43 (2C), 128.43, 127.91, 126.55 (2C), 125.59, 123.67, 122.47, 120.15, 119.81, 108.33 ppm.

## 27 2-(3-Methoxyphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 59)



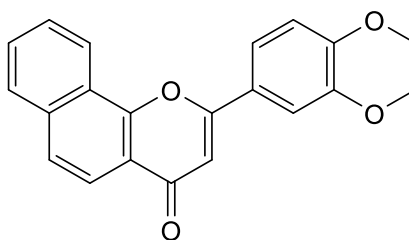
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**2**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 78 %).

Summenformel:  $C_{20}H_{14}O_3$

Molekulargewicht: 302,32 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.63 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 8.11 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.81 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 3H), 7.68 (s, 1H), 7.54 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.24 – 7.18 (m, 2H), 3.90 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 177.02, 161.91, 159.93, 152.94, 135.62, 132.80, 130.60, 129.73, 128.42, 127.94, 125.57, 123.64, 122.37, 120.12, 119.80, 118.80, 117.74, 111.66, 108.65, 55.62 ppm.

## 28 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 44)



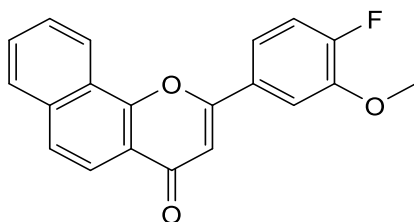
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**3**; 0,300 g; 0,9 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 36 %).

Summenformel:  $C_{21}H_{16}O_4$

Molekulargewicht: 332,35 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.67 – 8.64 (m, 1H), 8.13 – 8.09 (m, 1H), 8.00 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.86 (dd,  $J$  = 8.5, 2.2 Hz, 1H), 7.84 – 7.80 (m, 2H), 7.67 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 7.20 – 7.16 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.87 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 176.92, 162.27, 152.84, 152.10, 149.31, 135.59, 129.63, 128.44, 127.89, 125.40, 123.68, 123.66, 122.36, 120.20, 120.03, 119.71, 112.06, 109.63, 107.20, 56.04, 55.90 ppm.

## 29 2-(4-Fluor-3-methoxyphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 55)



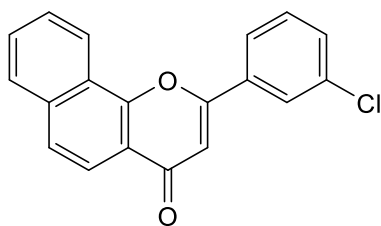
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(4-Fluor-3-methoxyphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**4**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 71 %).

Summenformel:  $C_{20}H_{13}FO_3$

Molekulargewicht: 320,31 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.70 – 8.66 (m, 1H), 8.11 – 8.04 (m, 3H), 7.98 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.92 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.82 – 7.78 (m, 2H), 7.37 (t,  $J$  = 8.9 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 3.96 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 176.84, 161.01, 152.77 (d,  $J$  = 12.2 Hz), 150.77, 150.16 (d,  $J$  = 10.6 Hz), 135.59, 129.68, 128.37, 127.85, 125.52, 123.98 (d,  $J$  = 7.0 Hz), 123.74 (d,  $J$  = 2.8 Hz), 123.59, 122.54, 120.12, 119.70, 114.35, 114.08 (d,  $J$  = 20.4 Hz), 107.64, 56.48 ppm.

## 30 2-(3-Chlorphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 75)



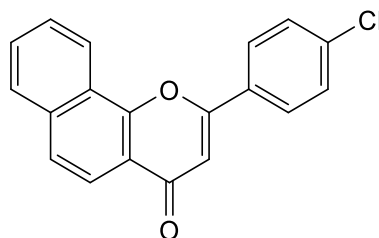
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3-Chlorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**5**; 0,200 g, 0,65 mmol) synthetisiert und als hellbrauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 93 %).

Summenformel:  $C_{19}H_{11}ClO_2$

Molekulargewicht: 306,74 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.67 – 8.63 (m, 1H), 8.25 – 8.23 (m, 1H), 8.22 – 8.18 (m, 1H), 8.13 – 8.09 (m, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.85 – 7.80 (m, 2H), 7.70 – 7.68 (m, 1H), 7.67 – 7.62 (m, 1H), 7.27 ppm (s, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 176.96, 160.59, 152.98, 135.66, 134.29, 133.56, 131.61, 131.27, 129.82, 128.42, 127.95, 126.17, 125.73, 125.27, 123.59, 122.51, 120.07, 119.83, 109.25 ppm.

### 31 2-(4-Chlorphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 57)



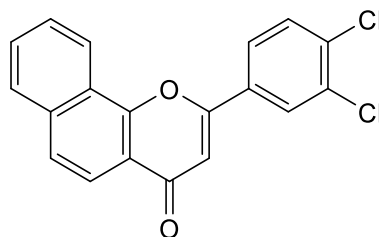
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(4-Chlorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**6**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 74 %).

Summenformel:  $C_{19}H_{11}ClO_2$

Molekulargewicht: 306,74 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.68 (s, 1H), 8.19 (d,  $J$  = 74.4 Hz, 3H), 8.04 – 7.89 (m, 2H), 7.75 (d,  $J$  = 71.0 Hz, 4H), 7.32 – 7.15 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 176.95, 161.02, 152.93, 136.70, 135.66, 130.29, 129.80, 129.46 (2C), 128.40 (3C), 127.89, 125.68, 123.61, 122.48, 120.11, 119.79, 108.67 ppm.

### 32 2-(3,4-Dichlorphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 71)



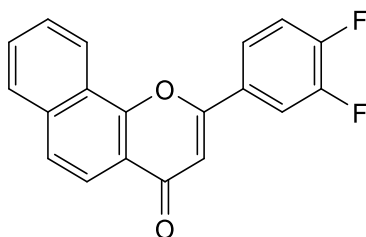
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dichlorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**7**; 0,300 g; 0,87 mmol) synthetisiert und als brauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

Summenformel:  $C_{19}H_{10}Cl_2O_2$

Molekulargewicht: 341,19 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.68 – 8.65 (m, 1H), 8.44 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 8.22 (dd,  $J$  = 8.5, 2.2 Hz, 1H), 8.11 (dd,  $J$  = 6.0, 3.3 Hz, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.86 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.84 – 7.80 (m, 2H), 7.32 ppm (s, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 176.89, 159.72, 152.95, 135.66, 134.51, 132.42, 132.03, 131.51, 129.84, 128.40, 128.31, 127.92, 126.65, 125.78, 123.53, 122.55, 120.03, 119.80, 109.47 ppm.

### 33 2-(3,4-Difluorphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 65)



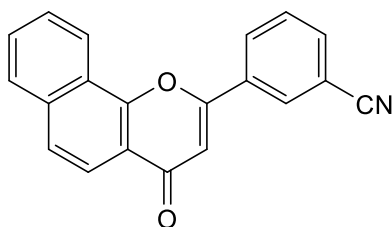
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Difluorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**8**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

Summenformel:  $C_{19}H_{10}F_2O_2$

Molekulargewicht: 308,28 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.74 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.35 – 8.30 (m, 1H), 8.17 – 8.10 (m, 3H), 7.98 – 7.94 (m, 1H), 7.92 – 7.88 (m, 1H), 7.71 – 7.64 (m, 1H), 7.27 ppm (s, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 175.85, 135.80, 132.45, 131.84, 131.01, 129.08, 125.96, 124.39, 123.67, 120.80, 118.83 (d,  $J$  = 17.3 Hz), 116.38 (d,  $J$  = 19.7 Hz), 109.35, 96.44 ppm. Es fehlen die Signale von fünf quartäre C-Atome.

### 34 3-(4-Oxo-4*H*-benzo[*h*]chromen-2-yl)benzonitril (STK 49)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)benzonitril (**9**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und als rosafarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 87 %).

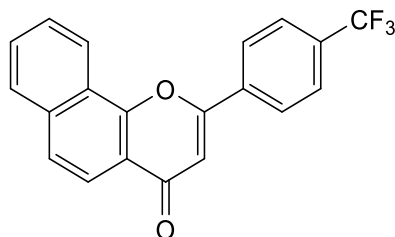
Summenformel:  $C_{20}H_{11}NO_2$



Molekulargewicht: 297,31 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 8.75 – 8.72 (m, 1H), 8.68 – 8.66 (m, 1H), 8.56 – 8.53 (m, 1H), 8.11 – 8.06 (m, 2H), 7.97 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.84 – 7.80 (m, 3H), 7.33 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 177.27, 160.39, 153.34, 136.00, 135.45, 132.99, 131.40, 130.93, 130.51, 130.20, 128.69, 128.24, 126.15, 123.89, 123.12, 120.35, 120.16, 118.68, 113.05, 109.87 ppm.

### 35 2-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 77)



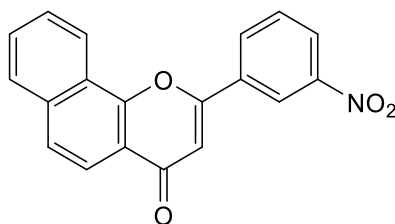
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(4-(trifluormethyl)phenyl)prop-2-en-1-on (**10**; 0,200 g; 0,6 mmol) synthetisiert und als hellbrauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 39 %).

Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 340,30 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 8.69 – 8.65 (m, 1H), 8.43 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 8.12 – 8.07 (m, 1H), 8.01 – 7.89 (m, 4H), 7.84 – 7.78 (m, 2H), 7.31 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 176.95, 160.44, 153.02, 135.69, 135.33, 131.60, 131.46 (q, *J* = 32.0 Hz), 130.69 (m), 129.86, 128.44, 127.91, 127.46, 126.17 (d, *J* = 3.6 Hz), 125.79, 123.58, 123.11 (m), 122.46, 120.06, 119.86, 109.81 ppm.

### 36 2-(3-Nitrophenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 87)



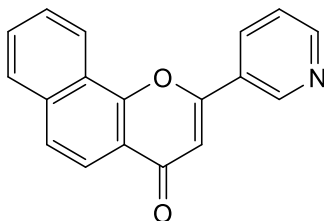
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(3-nitrophenyl)prop-2-en-1-on (**11**; 0,300 g; 0,94 mmol) synthetisiert und als rosafarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 45 %).

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 327,29 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 8.94 – 8.91 (m, 1H), 8.70 – 8.67 (m, 2H), 8.47 – 8.44 (m, 1H), 8.16 – 8.12 (m, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.94 – 7.91 (m, 1H), 7.89 – 7.83 (m, 2H), 7.41 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 176.97, 159.91, 153.05, 148.67, 135.74, 133.19, 132.85, 131.11, 129.94, 128.52, 128.04, 126.14, 125.90, 123.58, 122.38, 121.22, 120.10, 119.90, 109.94 ppm.

### 37 2-(Pyridin-3-yl)-4H-benzo[*h*]chromen-4-one (STK 67)



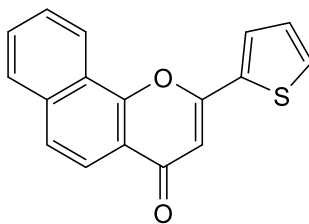
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-en-1-on (**12**; 0,300 g; 1,1 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 65 %).

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 273,29 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 9.39 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.79 (dd, *J* = 4.7, 1.3 Hz, 1H), 8.70 – 8.67 (m, 1H), 8.61 – 8.58 (m, 1H), 8.10 – 8.06 (m, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.81 – 7.76 (m, 2H), 7.65 (dd, *J* = 8.0, 4.7 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H) ppm. **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 176.83, 160.21, 153.05, 152.27, 147.53, 135.64, 134.18, 129.84, 128.38, 127.93, 127.56, 125.74, 124.23, 123.58, 122.64, 120.06, 119.85, 109.28 ppm.

### 38 2-(Thiophen-2-yl)-4H-benzo[*h*]chromen-4-on (STK 69)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-3-(thiophen-2-yl)prop-2-en-1-on (**13**; 0,200 g; 0,7 mmol) synthetisiert und als hellbrauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 80 %).

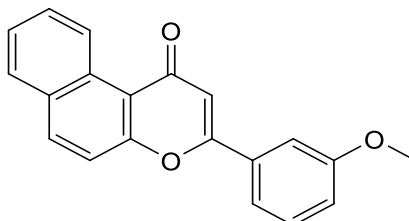
Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S

Molekulargewicht: 278,33 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ :** 8.59 – 8.56 (m, 1H), 8.17 – 8.15 (m, 1H), 8.14 – 8.10 (m, 1H), 8.03 – 8.01 (m, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.85 – 7.80 (m, 2H), 7.35 (dd, *J* = 4.9, 3.8 Hz, 1H), 7.06 ppm (s, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ :** 176.45, 158.25, 152.53, 135.61, 134.38, 131.88, 129.77, 129.74, 129.29, 128.48, 127.98, 125.58, 123.36, 121.99, 120.18, 119.79, 106.58 ppm.

### 39 3-(3-Methoxyphenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 85)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**14**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

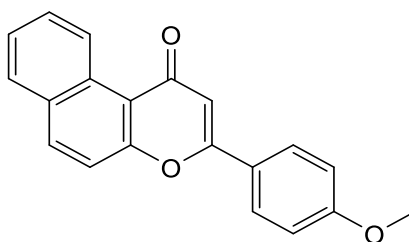
Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 302,32 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ :** 9.95 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.35 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.80 – 7.75 (m, 1H), 7.74 – 7.71 (m, 1H), 7.70 – 7.65 (m, 2H), 7.51 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.19 – 7.16 (m, 1H), 3.88 ppm (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ :** 179.37, 160.16, 159.93, 157.15, 135.89, 132.28, 130.52, 130.45, 129.80, 129.18, 128.71, 126.73, 126.21, 118.60, 118.35, 117.68, 116.37, 111.49, 110.18, 55.64 ppm.

### 40 3-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 63)



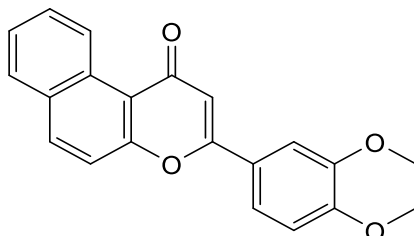
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**15**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und als senfgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 61 %).

Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 302,32 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 9.96 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 8.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.11 – 8.06 (m, 3H), 7.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.78 – 7.74 (m, 1H), 7.68 – 7.64 (m, 1H), 7.15 – 7.11 (m, 2H), 7.08 (s, 1H), 3.86 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 179.24, 162.17, 160.52, 157.00, 135.67, 130.49, 129.89, 129.07, 128.67, 128.14 (2C), 126.62, 126.25, 123.02, 118.26, 116.25, 114.75 (2C), 108.45, 55.67 ppm.

#### 41 3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 43)



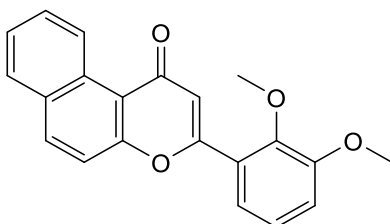
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)prop-2-en-1-on (**16**; 0,300 g; 0,9 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 48 %).

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 332,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 9.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.78 – 7.73 (m, 2H), 7.68 – 7.63 (m, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.85 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 179.63, 160.83, 157.34, 152.28, 149.57, 135.94, 130.81, 130.21, 129.38, 129.00, 126.94, 126.59, 123.41, 120.10, 118.68, 116.56, 112.24, 109.75, 109.04, 56.35, 56.19 ppm.

#### 42 3-(2,3-Dimethoxyphenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-one (STK 110)



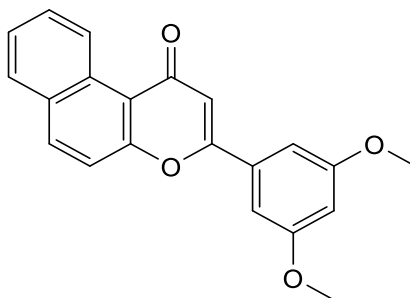
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(2,3-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)prop-2-en-1-on (**17**; 0,300 g; 0,9 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 79 %).

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 332,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 9.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.35 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.80 – 7.77 (m, 1H), 7.70 – 7.66 (m, 1H), 7.46 (dd, *J* = 7.5, 1.9 Hz, 1H), 7.32 – 7.29 (m, 1H), 7.29 – 7.26 (m, 1H), 6.96 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.86 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 179.23, 159.19, 157.40, 153.24, 147.41, 135.98, 130.46, 129.78, 129.24, 128.73, 126.75, 126.18, 125.47, 124.73, 120.68, 118.24, 116.17, 116.05, 114.26, 60.71, 56.20 ppm.

#### 43 3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 111)



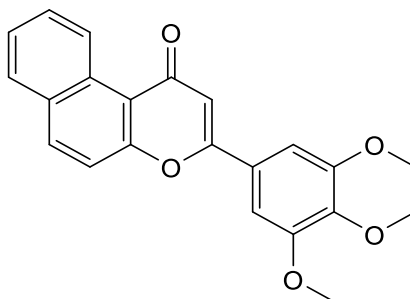
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)prop-2-en-1-on (**18**; 0,300 g; 0,9 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 74 %).

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 332,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 9.95 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.80 – 7.77 (m, 1H), 7.70 – 7.66 (m, 1H), 7.29 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 6.73 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.87 (s, 6H) ppm. **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 179.35, 161.13 (2C), 160.05, 157.15, 135.91, 132.87, 130.53, 129.78, 129.20, 128.73, 126.76, 126.21, 118.44, 116.37, 110.39, 104.36 (2C), 103.74, 55.80 (2C) ppm.

#### 44 3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 112)



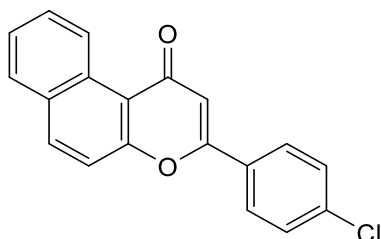
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**19**; 0,300 g; 0,8 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 59 %).

Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 362,38 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 9.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.35 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.78 – 7.75 (m, 1H), 7.69 – 7.65 (m, 1H), 7.42 (s, 2H), 7.28 (s, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.76 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 179.40, 160.20, 157.09, 153.48 (2C), 140.64, 135.72, 130.52, 129.83, 129.12, 128.70, 126.70, 126.24, 126.15, 118.47, 116.27, 109.77, 104.07 (2C), 60.36, 56.47 ppm (2C).

#### 45 3-(4-Chlorphenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 53)



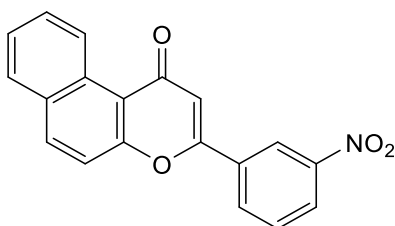
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(4-Chlorphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)-prop-2-en-1-on (**20**; 0,300 g; 1 mmol) synthetisiert und in Form von blassgelben Nadeln isoliert (Ausbeute: 84 %).

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 306,74 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 9.93 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.21 – 8.17 (m, 2H), 8.10 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.80 – 7.76 (m, 1H), 7.70 – 7.65 (m, 3H), 7.23 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 179.31, 159.30, 157.16, 136.62, 136.05, 130.56, 129.83, 129.79, 129.41 (2C), 129.28, 128.78, 128.19 (2C), 126.82, 126.21, 118.30, 116.38, 110.25 ppm.

#### 46 3-(3-Nitrophenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 93)



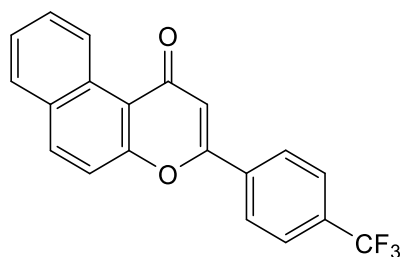
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(3-nitrophenyl)prop-2-en-1-on (**21**; 0,400 g; 1,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 84 %).

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 317,29 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 9.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.43 (dd, *J* = 8.2, 1.3 Hz, 1H), 8.39 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.89 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.80 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.70 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.41 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 179.26, 158.10, 157.25, 148.66, 136.23, 132.75, 132.64, 130.98, 130.60, 129.71, 129.36, 128.80, 126.91, 126.17, 126.09, 120.91, 118.36, 116.48, 111.41 ppm.

**47 3-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 95)**



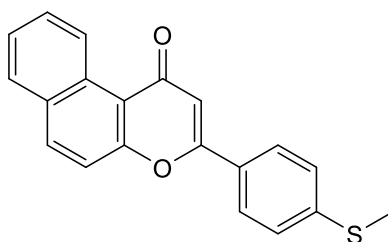
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(4-(trifluormethyl)phenyl)prop-2-en-1-on (**22**; 0,300 g; 0,9 mmol) synthetisiert und in Form von blassgelben Nadeln isoliert (Ausbeute: 54 %).

Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 340,30 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 9.91 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.37 – 8.32 (m, 3H), 8.08 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.88 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.77 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.67 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.31 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 179.26, 158.67, 157.21, 136.19, 134.87, 131.36 (q, *J* = 32.0 Hz), 130.55, 129.72, 129.32, 128.77, 127.18 (2C), 126.87, 126.12 (dd, *J* = 9.0, 5.2 Hz, 3C), 124.01 (q, *J* = 272.5 Hz), 118.25, 116.47, 111.35 ppm.

**48 3-(4-(Methylthio)phenyl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 97)**



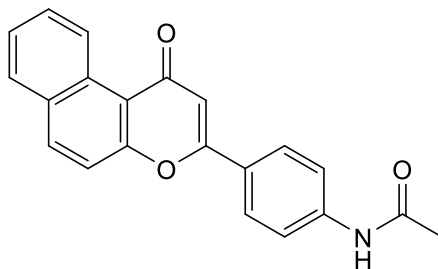
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(4-(methylthio)phenyl)prop-2-en-1-on (**23**; 0,200 g; 0,6 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 64 %).

Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>S

Molekulargewicht: 318,39 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 9.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.34 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.10 – 8.05 (m, 3H), 7.87 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.79 – 7.74 (m, 1H), 7.69 – 7.64 (m, 1H), 7.43 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 7.15 (s, 1H), 2.56 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 179.24, 160.15, 157.03, 143.60, 135.80, 130.50, 129.83, 129.13, 128.69, 126.85, 126.68, 126.63 (2C), 126.22, 125.76 (2C), 118.25, 116.35, 109.12, 14.23 ppm.

**49 N-(4-(1-Oxo-1*H*-benzo[*f*]chromen-3-yl)phenyl)acetamid (STK 99)**



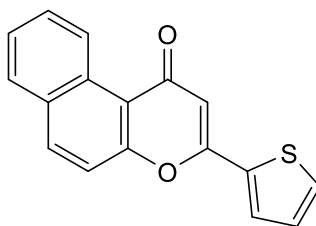
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-*N*-(4-(3-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)phenyl)acetamide (**24**, 0,300 g; 0,9 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 80 %).

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 329,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 10.27 (s, 1H), 9.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.34 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.12 – 8.07 (m, 3H), 7.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.78 – 7.75 (m, 1H), 7.66 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 2.09 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 179.58, 169.33, 160.62, 157.34, 142.88, 136.08, 130.82, 130.20, 129.44, 129.02, 127.51 (2C), 126.98, 126.56, 125.25, 119.32 (2C), 118.58, 116.63, 109.03, 24.65 ppm.

**50 3-(Thiophen-2-yl)-1*H*-benzo[*f*]chromen-1-on (STK 102)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-3-(thiophen-2-yl)prop-2-en-1-on (**25**; 0,200 g; 0,7 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 67 %).

Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S

Molekulargewicht: 278,33 g/mol



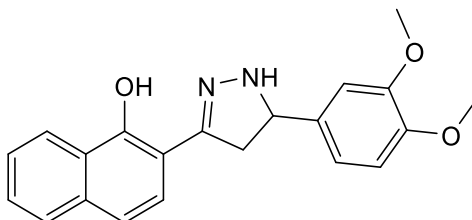
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 9.94 – 9.91 (m, 1H), 8.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.08 (dd, *J* = 8.3, 1.0 Hz, 1H), 8.04 (dd, *J* = 3.7, 1.2 Hz, 1H), 7.97 (dd, *J* = 4.9, 1.2 Hz, 1H), 7.79 – 7.74 (m, 2H), 7.69 – 7.64 (m, 1H), 7.31 (dd, *J* = 4.9, 3.8 Hz, 1H), 7.02 ppm (s, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 178.77, 156.73, 156.63, 135.93, 133.82, 131.67, 130.54, 129.84, 129.47, 129.19, 129.12, 128.71, 126.73, 126.21, 117.97, 116.38, 108.32 ppm.

### 7.1.3.3 Darstellung der Pyrazoline

Das entsprechende Chalkon wurde in einem 50 ml Rundhalskolben mit einem Überschuss an Hydrazin-Monohydrat (oder Phenylhydrazin) und Essigsäure in 20 ml Ethanol versetzt. Die Umsetzung der Suspension erfolgte im Ultraschallbad bei 70 °C für 4-5 h. Dabei entstand eine klare Lösung, welche die Vollständigkeit der Reaktion indizierte. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegeben, um das Produkt auszufällen. Der Niederschlag wurde abgesaugt und mit viel Wasser gewaschen. Letztlich erfolgten die Umkristallisation aus Ethanol und die Trocknung unter Vakuum bei 50 °C.

#### 51 2-(5-(3,4-Dimethoxyphenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 41)



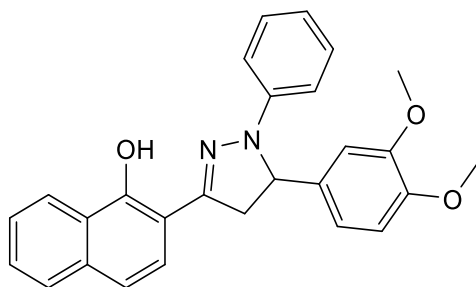
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)-prop-2-en-1-on (**3**; 0,300 g; 0,9 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 87 %).

Molekulargewicht: 348,40 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.28 (s, 1H), 8.24 (dt, *J* = 6.4, 3.0 Hz, 1H), 7.86 – 7.83 (m, 1H), 7.80 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 2H), 7.41 (s, 2H), 7.05 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 6.96 – 6.90 (m, 2H), 4.84 (td, *J* = 11.0, 3.6 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.67 (dd, *J* = 16.5, 10.5 Hz, 1H), 3.09 ppm (dd, *J* = 16.5, 11.3 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 153.59, 153.37, 148.94, 148.33, 134.57, 133.83, 127.60, 127.17, 125.57, 124.82, 124.04, 122.47, 118.99, 118.61, 111.98, 110.77, 110.19, 62.23, 55.74, 55.63, 41.13 ppm.

EA berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C, 72.40; H, 5.79; N, 8.04. Gefunden: C, 72.46; H, 5.97; N, 7.79.

**52 2-(5-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 42)**



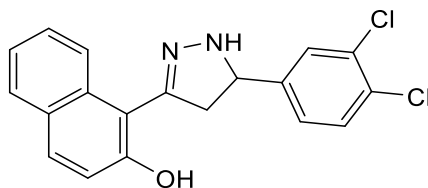
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**3**; 0,200 g; 0,6 mmol) und Phenylhydrazin synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 18 %).

Molekulargewicht: 424,49 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 11.72 (s, 1H), 8.34 – 8.29 (m, 1H), 7.89 – 7.85 (m, 1H), 7.58 – 7.54 (m, 2H), 7.45 (d, *J* = 1.1 Hz, 2H), 7.25 – 7.21 (m, 2H), 7.00 (dd, *J* = 8.7, 1.0 Hz, 3H), 6.90 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.84 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 6.82 – 6.79 (m, 1H), 5.40 (dd, *J* = 12.0, 7.3 Hz, 1H), 4.12 (dd, *J* = 17.5, 12.0 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.38 ppm (dd, *J* = 17.5, 7.4 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.06, 151.37, 149.32, 148.36, 144.09, 134.43, 134.16, 129.25 (2C), 127.70, 127.56, 125.92, 124.74, 124.03, 122.53, 119.58, 119.19, 118.17, 113.31 (2C), 112.35, 110.06, 109.83, 62.52, 55.67, 55.63, 43.94 ppm.

EA berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C, 76.39; H, 5.70; N, 6.60. Gefunden: C, 76.29; H, 5.83; N, 6.63.

**53 1-(5-(3,4-Dichlorphenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 46)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dichlorphenyl)-1-(1-hydroxynaphthalen-2-yl)prop-2-en-1-on (**7**; 0,200 g; 0,58 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

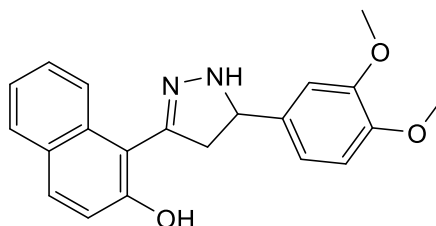
Molekulargewicht: 357,23 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.16 (s, 1H), 8.24 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.56 – 7.48 (m, 2H), 7.45 – 7.37 (m, 3H), 4.94 (td, *J* = 10.8, 3.8 Hz, 1H), 3.75 (dd, *J* = 16.7, 10.8 Hz, 1H), 3.12 ppm (dd, *J* = 16.6, 10.8 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.54,

153.32, 143.58, 133.81, 131.05, 130.71, 129.79, 128.92, 127.49, 127.17 (2C), 125.51, 124.70, 123.90, 122.38, 118.56, 109.81, 60.86, 40.93 ppm.

EA berechnet für  $C_{19}H_{14}Cl_2N_2O$ : C, 63.88; H, 3.95; N, 7.84. Gefunden: C, 64.26; H, 4.09; N, 7.79.

**54 1-(5-(3,4-Dimethoxyphenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 52)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxynaphthalen-1-yl)-prop-2-en-1-on (**16**; 0,150 g; 0,45 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 34 %).

Molekulargewicht: 348,40 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.65 (s, 1H), 8.12 (dd,  $J = 8.5, 0.7$  Hz, 1H), 7.81 – 7.76 (m, 2H), 7.50 – 7.39 (m, 2H), 7.31 – 7.27 (m, 1H), 7.19 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.10 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 6.96 (dd,  $J = 8.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 4.83 (t,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.54 (dd,  $J = 16.2, 10.2$  Hz, 1H), 3.10 ppm (dd,  $J = 16.2, 10.1$  Hz, 1H).  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 154.58, 149.22, 148.94, 148.20, 135.59, 132.63, 130.02, 128.31, 128.22, 126.59, 124.37, 122.87, 118.89, 118.43, 112.58, 111.95, 110.62, 63.34, 55.76, 55.61, 45.03 ppm.

EA berechnet für  $C_{21}H_{20}N_2O_3$ : C, 72.40; H, 5.79; N, 8.04. Berechnet  $\cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ : C, 65.61; H, 6.29; N, 7.29. Gefunden: C, 65.66; H, 5.97; N, 7.24.

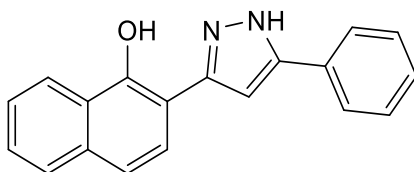
#### 7.1.3.4 Darstellung der Pyrazole

**Methode A:** Das ausgewählte Benzoflavon wurde in einem 50 ml Rundhalskolben mit einem Überschuss an Hydrazin-Monohydrat, Essigsäure (2 ml) und 25 ml Ethanol versetzt. Anschließend erfolgte die Umsetzung im Ultraschallbad bei 70 °C für 4-5 h. Die Auflösung der Suspension zu einer klaren Lösung indizierte das Ende der Reaktion. Die Mischung wurde auf Eiswasser gegossen, für 1-2 h im Kühlschrank gelagert, im Anschluss abfiltriert und mit viel Wasser gewaschen. Letztlich wurde das reine Produkt durch Umkristallisation aus Ethanol erhalten und unter Vakuum bei 50 °C getrocknet.

**Methode B:** Die Synthese erfolgte, im Gegensatz zu Methode A, basenkatalysiert mittels LiOH. Des Weiteren wurde als Lösungsmittel Methanol verwendet und die Umsetzung des

Reaktionsgemisches fand innerhalb der Mikrowelle (100 °C, 100 W, 30 min) statt. Anschließend gab man das Gemisch auf Eiswasser und säuerte mit verdünnter HCl an, um das Produkt zu fällen. Die weiteren Aufreinigungsschritte entsprachen der *Methode A*.

### 55 2-(5-Phenyl-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 74)



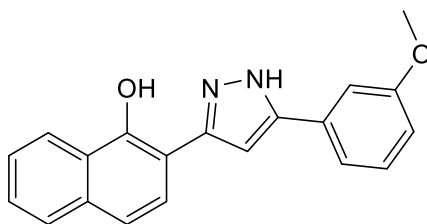
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Phenyl-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (**26**; 100 mg; 0,37 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 60 %).

Molekulargewicht: 286,33 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.78 (s, 1H), 11.96 (s, 1H), 8.30 – 8.25 (m, 1H), 7.91 – 7.88 (m, 2H), 7.88 – 7.84 (m, 2H), 7.55 – 7.50 (m, 4H), 7.48 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.43 ppm (dd, *J* = 14.8, 7.4 Hz, 2H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 152.22, 151.20, 143.47, 133.69, 129.25 (2C), 128.92, 128.77, 127.56, 126.66, 125.67 (2C), 125.48, 124.83, 124.44, 122.40, 118.91, 110.01, 99.81 ppm.

EA berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O: C, 79.70; H, 4.93; N, 9.78. Gefunden: C, 79.57; H, 5.01; N, 9.73.

### 56 2-(5-(3-Methoxyphenyl)-1*H*-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 60)



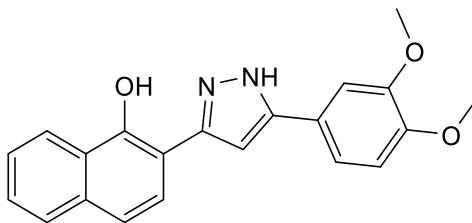
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3-Methoxyphenyl)-4*H*-benzo[*h*]chromen-4-on (**27**; 100 mg; 0,33 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

Molekulargewicht: 316,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.76 (s, 1H), 11.94 (s, 1H), 8.30 – 8.25 (m, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.87 – 7.84 (m, 1H), 7.52 – 7.50 (m, 2H), 7.49 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.48 – 7.46 (m, 2H), 7.46 – 7.41 (m, 2H), 7.02 – 6.97 (m, 1H), 3.85 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 159.94, 152.18, 151.19, 143.38, 133.70, 130.41, 130.01, 127.57, 126.66, 125.49, 124.84, 124.44, 122.40, 118.91, 117.96, 114.63, 111.12, 110.02, 100.07, 55.45 ppm.

EA berechnet für  $C_{20}H_{16}N_2O_2$ : C, 75.93; H, 5.10; N, 8.86. Gefunden: C, 75.64; H, 5.14; N, 8.81.

**57 2-(5-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 45)**



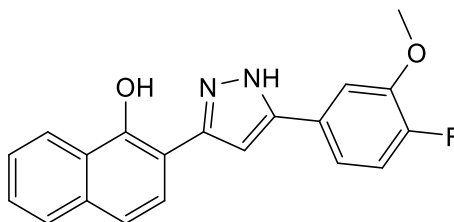
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**28**; 100 mg; 0,3 mmol) nach *Methode A* synthetisiert als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 56 %).

Molekulargewicht: 346,38 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 13.61 (s, 1H), 12.01 (s, 1H), 8.29 – 8.23 (m, 1H), 7.90 – 7.84 (m, 2H), 7.53 – 7.49 (m, 2H), 7.49 – 7.46 (m, 2H), 7.43 (dd,  $J$  = 8.3, 2.1 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.09 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H).  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 152.12, 151.19, 149.47, 149.26, 143.66, 133.65, 127.56, 126.61, 125.46, 124.85, 124.43, 122.38, 121.50, 118.85, 118.26, 112.34, 110.12, 109.59, 99.12, 55.87, 55.77 ppm.

EA berechnet für  $C_{21}H_{18}N_2O_3$ : C, 72.82; H, 5.24; N, 8.09. Gefunden: C, 72.37; H, 5.36; N, 7.89.

**58 2-(5-(4-Fluor-3-methoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 56)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(4-Fluor-3-methoxyphenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**29**; 90 mg; 0,28 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als hellbrauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 69 %).

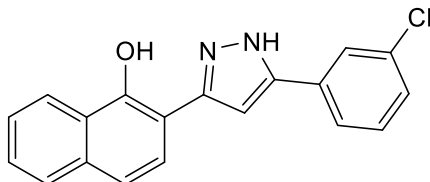
Molekulargewicht: 334,34 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.87 (s, 1H), 8.29 – 8.24 (m, 1H), 7.87 – 7.82 (m, 2H), 7.75 (dd,  $J$  = 12.6, 2.1 Hz, 1H), 7.68 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.52 – 7.49 (m, 2H), 7.47 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.32 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 3.90 ppm (s, 3H). Die NH-Gruppe ist nicht sichtbar.  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 152.75, 151.30, 151.29 (d,  $J$  = 122.4 Hz), 147.58 (d,  $J$  = 10.4 Hz), 142.76, 133.72, 127.57, 126.65, 125.46, 124.95, 124.44, 122.44,

122.19 (d,  $J = 3.0$  Hz), 122.10 (d,  $J = 7.0$  Hz), 118.85, 114.63 (d,  $J = 0.9$  Hz), 113.32 (d,  $J = 19.8$  Hz), 110.03, 99.61, 56.32 ppm.

EA berechnet für  $C_{20}H_{15}FN_2O_2$ : C, 71.85; H, 4.52; N, 8.38. Gefunden: C, 71.24; H, 4.66; N, 8.26.

### 59 2-(5-(3-Chlorphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 76)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3-Chlorphenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**30**; 180 mg; 0,59 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als fliederfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 62 %).

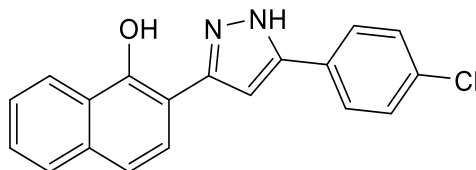
Summenformel:  $C_{19}H_{13}ClN_2O$

Molekulargewicht: 320,77 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 13.86 (s, 1H), 11.85 (s, 1H), 8.29 – 8.24 (m, 1H), 7.99 (d,  $J = 1.4$  Hz, 1H), 7.88 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.87 – 7.83 (m, 2H), 7.58 – 7.53 (m, 2H), 7.53 – 7.46 ppm (m, 4H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 152.32, 151.19, 142.06, 134.10, 133.74, 131.18, 130.79, 128.65, 127.57, 126.73, 125.53, 125.37, 124.83, 124.38, 124.24, 122.41, 119.00, 109.88, 100.65 ppm.

EA berechnet für  $C_{19}H_{13}ClN_2O$ : C, 71.14; H, 4.08; N, 8.73. Berechnet \* 0,5  $H_2O$ : C, 69.20; H, 4.28; N, 8.49. Gefunden: C, 69.01; H, 4.10; N, 8.28.

### 60 2-(5-(4-Chlorphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 58)



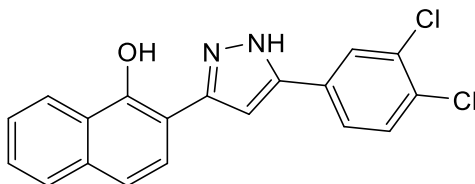
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(4-Chlorphenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**31**; 100 mg; 0,3 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 55 %).

Molekulargewicht: 320,77 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 13.83 (s, 1H), 11.89 (s, 1H), 8.29 – 8.24 (m, 1H), 7.91 – 7.88 (m, 2H), 7.88 – 7.84 (m, 2H), 7.60 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.52 – 7.47 ppm (m, 4H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 152.32, 151.20, 142.37, 133.72, 133.47, 129.33 (2C), 127.67, 127.56, 127.39 (2C), 126.71, 125.51, 124.83, 124.40, 122.40, 118.96, 109.91, 100.24 ppm.

EA berechnet für  $C_{19}H_{13}ClN_2O$ : C, 71.14; H, 4.08; N, 8.73. Gefunden: C, 70.74; H, 4.20; N, 8.55.

**61 2-(5-(3,4-Dichlorphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 72)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3,4-Dichlorphenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**32**; 90 mg; 0,26 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 24 %).

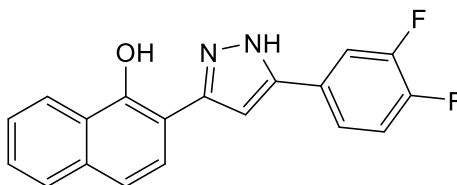
Molekulargewicht: 355,22 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 13.90 (s, 1H), 11.79 (s, 1H), 8.33 – 8.23 (m, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.88 – 7.84 (m, 3H), 7.81 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.53 – 7.48 ppm (m, 3H).

**$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 152.39, 151.19, 141.20, 133.77, 132.15, 131.52, 131.26, 129.37, 127.60, 127.39, 126.76, 125.71, 125.57, 124.83, 124.35, 122.43, 119.05, 109.81, 100.99 ppm.

EA berechnet für  $C_{19}H_{12}Cl_2N_2O$ : C, 64.24; H, 3.41; N, 7.89. Gefunden: C, 64.01; H, 3.57; N, 7.51.

**62 2-(5-(3,4-Difluorphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 66)**



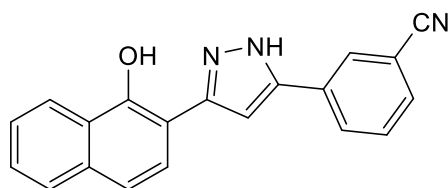
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3,4-Difluorphenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**33**; 100 mg; 0,32 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %).

Molekulargewicht: 322,31 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 13.83 (s, 1H), 11.83 (s, 1H), 8.29 – 8.24 (m, 1H), 7.99 – 7.93 (m, 1H), 7.88 – 7.83 (m, 2H), 7.76 – 7.71 (m, 1H), 7.66 – 7.58 (m, 1H), 7.53 – 7.48 ppm (m, 4H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 152.34, 151.20, 150.77 (dd,  $J$  = 36.0, 12.2 Hz), 148.81 (dd,  $J$  = 38.6, 12.1 Hz), 141.61, 133.74, 127.58, 126.75, 126.46 (q,  $J$  = 6.4, 3.6 Hz), 125.55, 124.84, 124.32, 122.69 (d,  $J$  = 3.0 Hz), 122.41, 119.01, 118.62 (d,  $J$  = 17.6 Hz), 114.93 (d,  $J$  = 18.8 Hz), 109.84, 100.58 ppm.

EA berechnet für  $C_{19}H_{12}F_2N_2O$ : C, 70.80; H, 3.75; N, 8.69. Gefunden: C, 70.71; H, 3.87; N, 8.69.

## 63 3-(3-(1-Hydroxynaphthalen-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)benzonitril (STK 50)



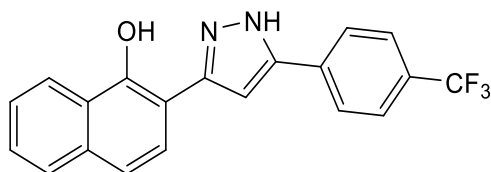
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-Oxo-4H-benzo[h]chromen-2-yl)benzonitril (34) nach *Methode B* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 59 %).

Molekulargewicht: 311,34 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 11.95 (s, 1H), 8.34 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H), 8.30 – 8.25 (m, 1H), 8.22 – 8.18 (m, 1H), 7.89 – 7.83 (m, 3H), 7.74 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.54 – 7.47 ppm (m, 4H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 151.18, 133.85, 132.15, 130.61, 130.10, 129.13, 127.67, 126.83, 125.62, 125.03, 124.49, 122.50, 119.17, 118.66, 112.48, 110.06, 101.10 ppm. Die Signale für drei quartäre C-Atome fehlen.

EA berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O: C, 77.16; H, 4.21; N, 13.50. Berechnet \*0,5 H<sub>2</sub>O: C, 74.99; H, 4.41; N, 13.12. Gefunden: C, 74.55; H, 4.58; N, 13.15.

## 64 2-(5-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 78)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (35; 73 mg; 0,2 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 54 %).

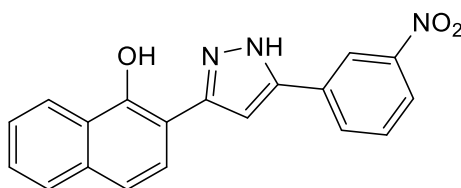
Molekulargewicht: 354,33 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 14.01 (s, 1H), 11.83 (s, 1H), 8.28 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.94 – 7.83 (m, 4H), 7.62 (s, 1H), 7.55 – 7.47 ppm (m, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 152.42, 151.20, 142.02, 133.78, 132.63, 128.96, 127.59, 126.75, 126.28 (4C), 125.56, 124.85, 124.42, 123.17, 122.43, 119.03, 109.85, 101.13 ppm.

EA berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O: C, 67.79; H, 3.70; N, 7.91. Gefunden: C, 67.51; H, 3.92; N, 7.82.



### 65 2-(5-(3-Nitrophenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 88)



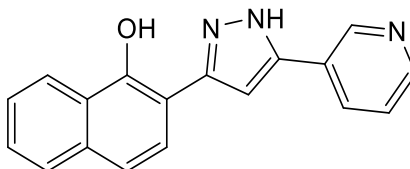
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3-Nitrophenyl)-4H-benzo[h]chromen-4-one (**36**; 100 mg; 0,32 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 31 %).

Molekulargewicht: 331,32 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 14.07 (s, 1H), 11.83 (s, 1H), 8.77 – 8.73 (m, 1H), 8.33 – 8.30 (m, 1H), 8.30 – 8.26 (m, 1H), 8.24 (dd, *J* = 8.2, 1.5 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.88 – 7.84 (m, 1H), 7.82 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.55 – 7.47 ppm (m, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, <sup>13</sup>C-apt, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 148.64, 133.82, 131.83, 130.88, 127.63, 126.78, 125.58, 124.96, 124.55, 123.19, 122.45, 120.00, 119.19, 101.41 ppm. Es fehlen die Signale für insgesamt 5 quartäre C-Atome. **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, <sup>13</sup>C, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 152.44, 151.14, 148.60, 141.46, 133.78, 131.79, 130.84, 130.46, 127.59, 126.73, 125.54, 124.86, 124.46, 123.25, 122.41, 120.00, 119.07, 109.85, 101.28 ppm.

EA berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 68.88; H, 3.95; N, 12.68. Gefunden: C, 68.69; H, 3.97; N, 12.46.

### 66 2-(5-(pyridin-3-yl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 68)



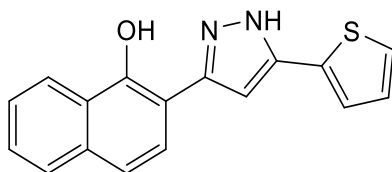
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(Pyridin-3-yl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**37**; 100 mg; 0,37 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 34 %).

Molekulargewicht: 287,32 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.94 (s, 1H), 11.87 (s, 1H), 9.11 (dd, *J* = 2.2, 0.6 Hz, 1H), 8.61 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.31 – 8.26 (m, 1H), 8.26 – 8.22 (m, 1H), 7.90 – 7.83 (m, 2H), 7.58 – 7.53 (m, 2H), 7.53 – 7.48 ppm (m, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 151.11, 149.65, 146.80, 133.78, 132.88, 127.61, 126.75, 125.56, 124.92, 124.48, 124.19, 122.44, 119.10, 100.65 ppm. Insgesamt sind die Signale für vier quartäre C-Atome im NMR nicht sichtbar.

EA berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O: C, 75.25; H, 4.56; N, 14.63. Gefunden: C, 74.76; H, 4.60; N, 14.54.

## 67 2-(5-(thiophen-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ol (STK 70)



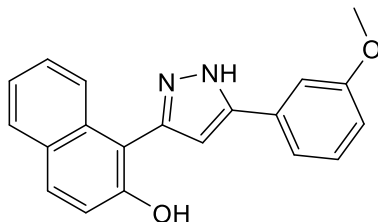
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(Thiophen-2-yl)-4H-benzo[h]chromen-4-on (**38**; 100 mg; 0,36 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als gräulicher Feststoff isoliert (Ausbeute: 56 %).

Molekulargewicht: 292,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.81 (s, 1H), 11.86 (s, 1H), 8.30 – 8.24 (m, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.85 (dd, *J* = 5.7, 3.7 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.52 – 7.49 (m, 2H), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.22 – 7.18 ppm (m, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 152.17, 151.22, 137.99, 133.74, 130.76, 128.37, 127.57, 127.08, 126.71, 125.66, 125.50, 124.81, 124.51, 122.42, 118.95, 109.85, 100.00 ppm.

EA berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>OS: C, 69.84; H, 4.14; N, 9.58. Gefunden: C, 69.83; H, 4.27; N, 9.50.

## 68 1-(5-(3-Methoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 86)

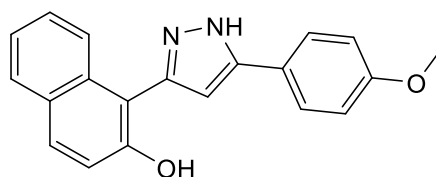


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(3-Methoxyphenyl)-1H-benzo[f]chromen-1-on (**39**; 99 mg; 0,33 mmol) nach *Methode B* synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 16 %).

Molekulargewicht: 316,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.85 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 7.87 – 7.81 (m, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.48 – 7.43 (m, 2H), 7.43 – 7.38 (m, 1H), 7.35 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.32 – 7.29 (m, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 159.79, 153.53, 129.89, 128.14 (2C), 127.97, 126.82, 122.92 (2C), 118.38, 117.78 (2C), 110.59, 55.26 ppm. Insgesamt fehlen die Signale für sechs C-Atome.

EA berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: C, 75.93; H, 5.10; N, 8.86. Gefunden: C, 75.35; H, 5.13; N, 8.68.

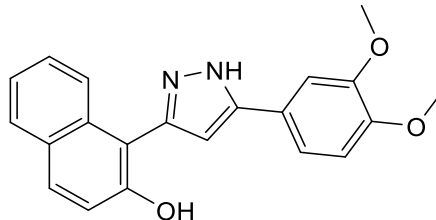
**69 1-(5-(4-Methoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 64)**


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-Methoxyphenyl)-1H-benzo[f]chromen-1-one (**40**; 100 mg; 0,33 mmol) nach *Methode B* synthetisiert und in Form eines beigen Feststoffes isoliert (Ausbeute: 29 %).

Molekulargewicht: 316,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.76 (s, 1H), 9.89 (s, 1H), 7.88 – 7.79 (m, 4H), 7.53 (d, *J* = 73.5 Hz, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.34 – 7.28 (m, 1H), 7.27 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.08 – 6.68 (m, 3H), 3.80 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 158.71, 153.53, 128.14 (2C), 127.88, 126.85, 126.48, 122.90 (2C), 118.35, 114.15, 103.52, 55.28 ppm. Die Signale von sieben C-Atomen fehlen.

EA berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: C, 75.93; H, 5.10; N, 8.86. Gefunden: C, 75.67; H, 5.19; N, 7.69.

**70 1-(5-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 48)**


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1H-benzo[f]chromen-1-on (**41**; 100 mg; 0,3 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 46 %).

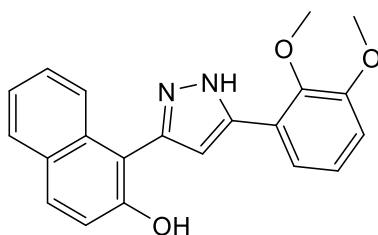
Molekulargewicht: 346,38 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.77 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 2H), 7.30 (dd, *J* = 19.7, 12.2 Hz, 2H), 7.07 – 6.71 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.79 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.87, 149.40, 128.47 (2C), 128.20, 127.19, 123.23, 118.63, 118.03, 112.49, 109.32, 104.02, 56.04 ppm (2C). Insgesamt sind die Signale von sieben C-Atomen nicht sichtbar.

LC-MS (*m/z*): 347 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96 %.

EA berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C, 72.82; H, 5.24; N, 8.09. Gefunden: C, 72.44; H, 5.29; N, 8.03.

## 71 1-(5-(2,3-Dimethoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 113)



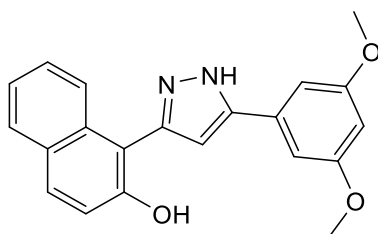
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(2,3-Dimethoxyphenyl)-1H-benzo[f]chromen-1-on (42; 100 mg; 0,3 mmol) nach *Methode B* synthetisiert und als lachsfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 24 %).

Molekulargewicht: 346,39 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.83 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 8.5 Hz, 3H), 7.52 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.15 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.76 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 153.46, 153.34, 146.10, 133.39, 129.92, 128.20 (2C), 128.07, 126.77, 124.33, 124.13, 122.89, 119.58, 118.46, 107.18, 59.93, 55.96 ppm. Insgesamt sind die Signale von vier quartären C-Atomen nicht sichtbar.

EA berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C, 72.82; H, 5.24; N, 8.09. Gefunden: C, 72.40; H, 5.29; N, 7.55.

## 72 1-(5-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 115)

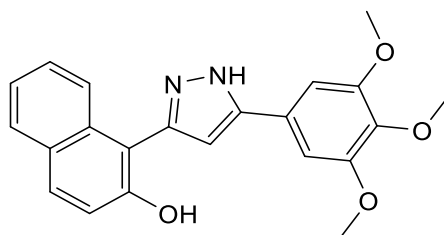


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1H-benzo[f]chromen-1-on (43; 100 mg; 0,3 mmol) nach *Methode B* synthetisiert und als hellbeiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

Molekulargewicht: 346,39 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.88 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.60 (s, 1H), 7.43 – 7.37 (m, 1H), 7.34 – 7.24 (m, 2H), 7.06 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.85 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 3.81 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 160.92 (2C), 153.52, 128.13 (2C), 127.93, 126.83, 122.91 (2C), 118.36, 103.40 (2C), 55.39 ppm (2C). Die Signale von sieben C-Atomen fehlen.

EA berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C, 72.82; H, 5.24; N, 8.09. Gefunden: C, 73.10; H, 5.38; N, 7.30.

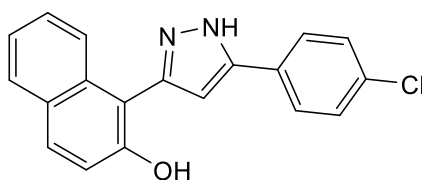
**73 1-(5-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 116)**


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-1H-benzo[*f*]chromen-1-on (**44**; 100 mg; 0,3 mmol) nach *Methode B* synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 52 %).

Molekulargewicht: 376,41 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.84 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.33 – 7.24 (m, 2H), 7.18 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 3.86 (s, 6H), 3.70 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.56, 153.29 (2C), 150.34, 137.74, 137.13, 133.76, 130.30, 130.02, 128.14 (2C), 127.84, 126.90, 123.95, 122.92, 118.29, 110.03, 104.20, 102.76, 60.25 (2C), 56.08 ppm.

EA berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 70.20; H, 5.36; N, 7.44. Gefunden: C, 69.86; H, 5.44; N, 6.96.

**74 1-(5-(4-Chlorphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 54)**


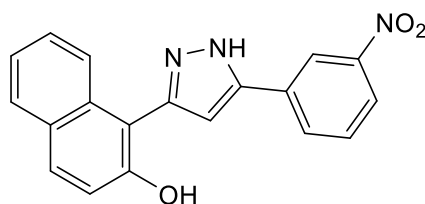
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-Chlorphenyl)-1H-benzo[*f*]chromen-1-on (**45**; 102 mg; 0,33 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 27 %).

Molekulargewicht: 320,77 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.97 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.87 – 7.81 (m, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 7.43 – 7.38 (m, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 1H), 7.28 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.85 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.61, 149.21, 138.03, 133.70, 133.18, 131.69, 130.38, 128.76 (2C), 128.14 (2C), 127.85, 126.93 (2C), 123.88, 122.98, 118.30, 109.78, 104.21 ppm.

EA berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>O: C, 71.14; H, 4.08; N, 8.73. Gefunden: C, 70.82; H, 4.13; N, 8.61.

## 75 1-(5-(3-Nitrophenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 94)



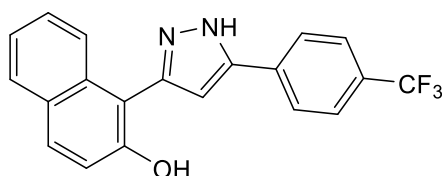
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(3-Nitrophenyl)-1H-benzof[*f*]chromen-1-on (**46**; 150 mg; 0,5 mmol) nach *Methode B* synthetisiert und als grünlcher Feststoff isoliert (Ausbeute: 37 %).

Molekulargewicht: 331,32 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.18 (s, 1H), 8.70 – 8.68 (m, 1H), 8.36 – 8.31 (m, 1H), 8.18 – 8.14 (m, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.73 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.44 – 7.38 (m, 1H), 7.34 – 7.28 (m, 2H), 7.03 ppm (s, 1H). Das Singulett der NH-Gruppe ist nicht sichtbar. **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.71, 148.61, 133.64, 131.67, 130.52, 130.49, 128.23, 127.93, 127.06, 123.95, 123.07, 122.01, 119.33, 118.36, 104.99 ppm. Insgesamt sind die Signale von vier quartären C-Atomen nicht sichtbar.

EA berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: C, 68.88; H, 3.95; N, 12.68. Berechnet \*0,5 H<sub>2</sub>O: C, 67.05; H, 4.15; N, 12.35. Gefunden: C, 67.15; H, 4.21; N, 12.87.

## 76 1-(5-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 96)

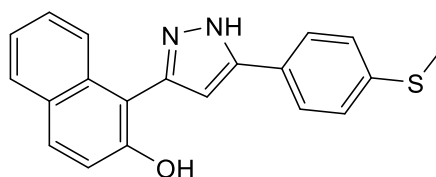


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-1H-benzof[*f*]chromen-1-on (**47**; 93 mg; 0,3 mmol) nach *Methode A* synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 52 %).

Molekulargewicht: 354,33 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.13 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.90 – 7.83 (m, 2H), 7.78 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.44 – 7.37 (m, 1H), 7.34 – 7.26 (m, 2H), 6.97 ppm (s, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.66, 149.00, 138.18, 133.63, 130.43, 128.19, 127.91, 127.41 (m), 127.00, 125.75 (4C), 125.51, 123.82 (d, *J* = 33.9 Hz), 123.02, 121.98, 118.34, 109.61, 104.96 ppm.

EA berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O: C, 67.79; H, 3.70; N, 7.91. Gefunden: C, 67.84; H, 3.59; N, 7.87.

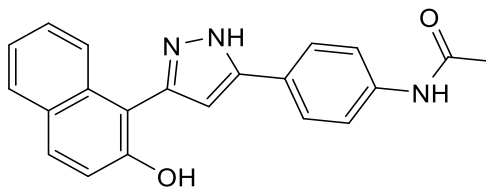
**77 1-(5-(4-(Methylthio)phenyl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 98)**


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-(Methylthio)phenyl)-1H-benzof[*f*]chromen-1-on (**48**; 200 mg, 0,6 mmol) nach *Methode B* synthetisiert als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 62 %).

Molekulargewicht: 332,42 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 9.98 (s, 1H), 7.86 – 7.81 (m, 5H), 7.73 (s, 1H), 7.42 – 7.38 (m, 1H), 7.34 – 7.32 (m, 1H), 7.31 – 7.29 (m, 2H), 7.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 2.51 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.52, 133.52 (2C), 130.09, 128.14, 127.95, 126.83, 126.39 (2C), 125.81(2C), 124.12, 122.93, 118.38, 104.04, 14.89 ppm. Insgesamt sind die Signale von vier quartären C-Atomen nicht sichtbar.

EA für berechnet C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>OS: C, 72.26; H, 4.85; N, 8.43. Gefunden: C, 72.04; H, 4.93; N, 8.17.

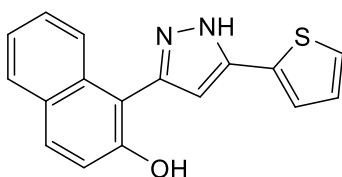
**78 N-(4-(3-(2-Hydroxynaphthalen-1-yl)-1H-pyrazol-5-yl)phenyl)acetamid (STK 100)**


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus N-(4-(1-Oxo-1H-benzof[*f*]chromen-3-yl)phenyl)acetamid (**49**) nach *Methode B* synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 13 %).

Molekulargewicht: 343,38 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.80 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 7.81 (dd, *J* = 17.5, 8.3 Hz, 4H), 7.65 (d, *J* = 5.7 Hz, 3H), 7.43 – 7.37 (m, 1H), 7.32 – 7.28 (m, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.96 – 6.69 (m, 2H), 2.06 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 168.39, 153.50, 128.13 (2C), 126.79, 125.69, 125.60, 122.90 (2C), 119.24 (2C), 118.37, 103.74, 24.17 ppm. Die Signale von sieben quartären C-Atomen fehlen.

EA berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: C, 73.45; H, 4.99; N, 12.24. Berechnet \*1 H<sub>2</sub>O: C, 69.79; H, 5.30; N, 11.63. Gefunden: C, 69.86; H, 5.36; N, 11.33.

**79 1-(5-(Thiophen-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-2-ol (STK 103)**

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(Thiophen-2-yl)-1H-benzof[*f*]chromen-1-on (**50**; 100 mg; 0,36 mmol) nach *Methode B* synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 25 %).

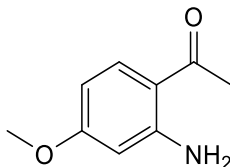
Molekulargewicht: 292,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.87 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 7.97 – 7.76 (m, 2H), 7.58 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.50 – 7.38 (m, 3H), 7.30 (dd, *J* = 17.0, 8.8 Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.71 ppm (d, *J* = 7.3 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 153.62, 146.01, 137.87, 137.64, 133.68, 130.41, 128.13, 127.83, 127.67, 126.96, 124.43, 123.83, 123.51, 122.98, 118.29, 109.61, 103.86 ppm.

EA berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>OS: C, 69.84; H, 4.14; N, 9.58. Gefunden: C, 69.86; H, 4.17; N, 9.39.

**7.1.3.5 Darstellung von 4'-Methoxy- und 4',6'-Dimethoxy-2'-aminoacetophenon**

In einem 100 ml Dreihalskolben wurde eine Lösung aus Bortrichlorid (23,63 mmol) in Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C herabgekühlt. Im Anschluss wurde eine Lösung aus 3-Methoxyanilin (21,48 mmol) bzw. 3,5-Dimethoxyanilin (21,48 mmol) in 15 ml 1,2-Dichlorethan vorsichtig hinzuge tropft. Nachdem die Zugabe von Aluminiumchlorid (23,63 mmol) und Acetonitril (21,48 mmol) erfolgte, wurde das Reaktionsgemisch bei 80 °C für 20 h refluxiert. Nach erfolgter Umsetzung wurde die Mixtur erneut auf 0 °C abgekühlt, mit 2 mol/l HCl versetzt und für 30 min bei 80 °C gerührt. Die Lösung wurde mittels Dichlormethan extrahiert, die organische Phase mit 1 mol/l NaOH und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über wasserfreiem MgSO<sub>4</sub> getrocknet.

**80 1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)ethan-1-on (STK 189)**

Das Produkt wurde nach Evaporieren des Lösungsmittels erhalten und ohne weitere Aufarbeitung in Form weißer Kristalle isoliert (Ausbeute: 39 %).

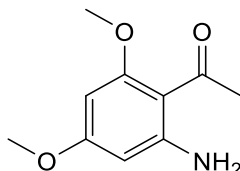


Summenformel:  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$

Molekulargewicht: 165,19 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )  $\delta$ :** 7.63 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 1H), 7.27 (s, 2H), 6.22 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 6.12 (dd,  $J$  = 8.9, 2.5 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.40 ppm (s, 3H).  **$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )  $\delta$ :** 198.50, 164.18, 153.87, 134.63, 112.12, 103.87, 98.88, 55.44, 27.98 ppm.

### 81 1-(2-Amino-4,6-dimethoxyphenyl)ethan-1-on (STK 221)



Das Produkt wurde nach Umkristallisation mit EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:4) als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 46 %).

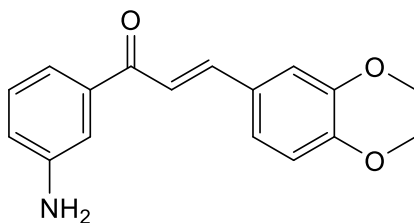
Summenformel:  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_3$

Molekulargewicht: 195,22 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )  $\delta$ :** 7.19 (s, 1H), 5.87 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 5.74 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 3.76 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.30 (s, 2H), 2.49 (dd,  $J$  = 3.4, 1.7 Hz, 1H), 2.38 ppm (s, 3H).  **$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )  $\delta$ :** 198.75, 163.98, 163.49, 154.51, 104.88, 92.14, 87.81, 55.88, 55.40, 33.99 ppm.

#### 7.1.3.6 Darstellung der Aminochalkone

In einem 50 ml Rundhalskolben wurde 2'-, 3'- oder 4'-Aminoacetophenon (1 äquiv.) vorgelegt und mit 25 ml Ethanol versetzt. Anschließend wurde das gewünschte Benzaldehyd (1 äquiv.) und LiOH (7 äquiv.) als Basenkatalysator hinzugefügt. Die Umsetzung erfolgte im Ultraschallbad bei Raumtemperatur für 4-5 h. Nach Überprüfung auf die vollständige Umsetzung der Reaktion mittels DC, wurde das Gemisch auf Eiswasser geschüttet und vorsichtig mit verdünnter HCl angesäuert. Der sich bildende Niederschlag wurde abgesaugt und mit viel Wasser gewaschen. Letztlich erfolgte die Umkristallisation aus EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1) und die Trocknung unter Vakuum bei 50 °C.

82 (*E*)-1-(3-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 149)

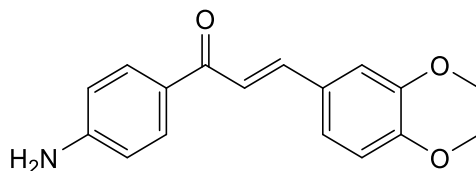
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3'-Aminoacetophenon (0,311 g; 2,3 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (0,382 g; 2,3 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 52 %).

Summenformel:  $C_{17}H_{17}NO_3$

Molekulargewicht: 283,33 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 7.64 (d,  $J$  = 2.7 Hz, 2H), 7.47 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 7.34 (dd,  $J$  = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.32 – 7.29 (m, 1H), 7.26 – 7.23 (m, 1H), 7.19 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.01 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 6.85 – 6.80 (m, 1H), 5.31 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 189.74, 151.31, 149.20 (2C), 143.90, 138.89, 129.18, 127.75, 123.68, 120.33, 118.52, 116.43, 113.09, 111.79, 110.96, 55.89, 55.76 ppm.

83 (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 148)

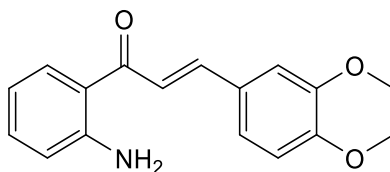
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4'-Aminoacetophenon (1,35 g; 10 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (1.66 g; 10 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 69 %).

Summenformel:  $C_{17}H_{17}NO_3$

Molekulargewicht: 283,33 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 7.91 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 7.73 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.56 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 7.47 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 7.30 (dd,  $J$  = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 6.99 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 6.62 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 6.06 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 186.05, 153.81, 150.89, 149.17, 141.96, 131.11 (2C), 128.17, 125.74, 123.33, 120.18, 112.83 (2C), 111.75, 110.74, 55.88, 55.72 ppm.

### 84 (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 170)



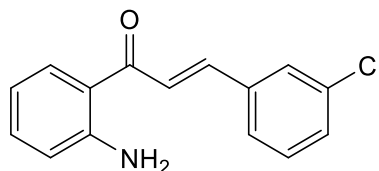
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2'-Aminoacetophenon (1,35 g; 10 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (1,66 g; 10 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 57 %).

Summenformel:  $C_{17}H_{17}NO_3$

Molekulargewicht: 283,33 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.08 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.81 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 7.58 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 7.49 (d,  $J$  = 1.8 Hz, 1H), 7.32 (dd,  $J$  = 8.0, 1.9 Hz, 3H), 7.29 – 7.24 (m, 1H), 6.99 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 6.78 (dd,  $J$  = 8.4, 1.0 Hz, 1H), 6.62 – 6.55 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 190.75, 152.04, 151.01, 149.18, 142.56, 134.14, 131.45, 128.03, 123.53, 121.09, 117.86, 116.98, 114.52, 111.73, 110.81, 55.90, 55.72 ppm.

### 85 (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3-chlorophenyl)prop-2-en-1-on (STK 180)



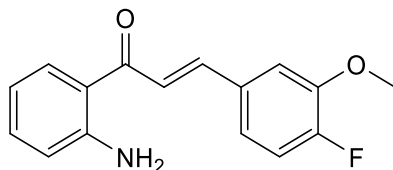
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2'-Aminoacetophenon (0,676 g; 5 mmol) und 3-Chlorbenzaldehyd (0,703 g; 5 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 75 %).

Summenformel:  $C_{15}H_{12}ClNO$

Molekulargewicht: 257,72 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.11 (dd,  $J$  = 8.2, 1.4 Hz, 1H), 8.04 – 7.99 (m, 2H), 7.78 – 7.75 (m, 1H), 7.58 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.47 – 7.44 (m, 2H), 7.39 (s, 2H), 7.31 – 7.25 (m, 1H), 6.80 (dd,  $J$  = 8.4, 1.1 Hz, 1H), 6.61 – 6.55 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 190.45, 152.28, 140.31, 137.48, 134.55, 133.90, 131.72, 130.72, 129.73, 127.84, 127.69, 125.16, 117.48, 117.01, 114.57 ppm.

**86 (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(4-fluor-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 181)**



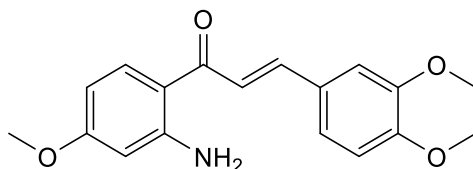
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2'-Aminoacetophenon (0,676 g; 5 mmol) und 3,4-Difluorbenzaldehyd (0,710 g; 5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 75 %). Während der Reaktion erfolgte eine Williamson-Ethersynthese, wobei der Fluorrest in meta-Position durch eine Methoxygruppe substituiert wurde.

Summenformel:  $C_{16}H_{14}FNO_2$

Molekulargewicht: 271,29 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.08 (dd,  $J$  = 8.2, 1.4 Hz, 1H), 7.87 (dd,  $J$  = 12.9, 2.1 Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 7.59 – 7.54 (m, 2H), 7.34 (s, 2H), 7.29 – 7.24 (m, 1H), 7.20 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 6.78 (dd,  $J$  = 8.4, 1.1 Hz, 1H), 6.60 – 6.55 (m, 1H), 3.88 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 190.56, 152.14, 151.78 (d,  $J$  = 244.1 Hz), 148.89 (d,  $J$  = 10.9 Hz), 140.98, 134.31, 131.55, 128.52 (d,  $J$  = 6.8 Hz), 126.76, 122.50, 117.70, 116.99, 115.00 (d,  $J$  = 18.5 Hz), 114.55, 113.90, 56.29 ppm.

**87 (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 190)**



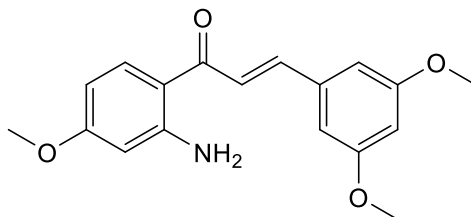
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4'-Methoxy-2'-aminoacetophenon (**80**; 1,0 g; 6 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyde (1,0 g; 6 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 79 %).

Summenformel:  $C_{18}H_{19}NO_4$

Molekulargewicht: 313,35 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.04 (d,  $J$  = 9.1 Hz, 1H), 7.76 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 3H), 7.47 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 7.29 (dd,  $J$  = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 6.98 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 6.28 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 6.18 (dd,  $J$  = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.75 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.82, 163.90, 154.72, 150.81, 149.17, 141.62, 133.53, 128.22, 123.29, 121.30, 112.44, 111.74, 110.73, 103.73, 98.59, 55.89, 55.72, 55.13 ppm.

**88 (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 200).**



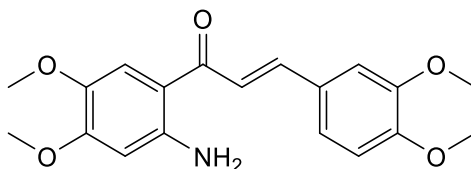
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4'-Methoxy-2'-aminoacetophenon (**80**; 0,349 g; 2,1 mmol) und 3,5-Dimethoxybenzaldehyd (0,349 g; 2,1 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 73 %).

Summenformel:  $C_{18}H_{19}NO_4$

Molekulargewicht: 313,35 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.05 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 7.87 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H), 7.56 (s, 2H), 7.49 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H), 6.98 (d,  $J = 2.2$  Hz, 2H), 6.53 (t,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 6.29 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 6.17 (dd,  $J = 9.0, 2.5$  Hz, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.76 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.67, 164.08, 160.84 (2C), 154.88, 141.27, 137.33, 133.73, 124.23, 112.28, 106.47 (2C), 103.88, 102.32, 98.52, 55.55 (2C), 55.16 ppm.

**89 (E)-1-(2-Amino-4,5-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 217)**

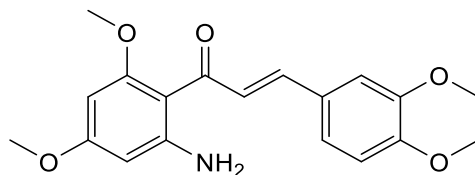


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4',5'-Dimethoxy-2'-aminoacetophenon (1,95 g; 10 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (1,66 g; 10 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

Summenformel:  $C_{19}H_{21}NO_5$

Molekulargewicht: 343,38 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 7.72 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.45 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.34 (dd,  $J = 8.2, 1.9$  Hz, 3H), 6.99 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.75 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.35, 155.72, 150.78, 150.01, 149.12, 141.55, 139.24, 128.29, 122.96, 121.64, 114.93, 111.82, 111.40, 110.08, 99.10, 57.30, 55.95, 55.74, 55.42 ppm.

**90 (E)-1-(2-Amino-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 222)**

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4',6'-Dimethoxy-2'-aminoacetophenon (**81**; 0,500 g; 2,6 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (0,432 g; 2,6 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

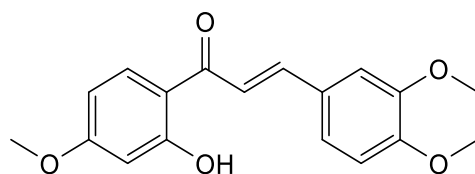
Summenformel:  $C_{19}H_{21}NO_5$

Molekulargewicht: 343,38 g/mol

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 7.40 – 7.32 (m, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.20 (dd,  $J$  = 8.3, 1.4 Hz, 1H), 6.98 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 6.81 (s, 2H), 5.93 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 5.83 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.73 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 190.29, 163.60, 162.27, 153.38, 150.53, 149.11, 138.86, 128.41, 127.77, 122.00, 111.97, 110.69, 105.94, 92.07, 87.97, 55.75, 55.72, 55.66, 55.15 ppm.

**7.1.3.7 Darstellung der 2'-Hydroxy-4'-methoxychalkone**

Ein Gemisch aus 1 äquiv. 2'-Hydroxy-4'-methoxyacetophenon und dem jeweiligen Benzaldehyd (1 äquiv.) wird mit 40 ml Ethanol und 7 äquiv. LiOH vermischt. Anschließend wurde die Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wurde das Produkt durch das Schütten auf Eiswasser ausgefällt und abgesaugt. Die Umkristallisation erfolgt aus EtOH/H<sub>2</sub>O (1:1).

**91 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 206)**

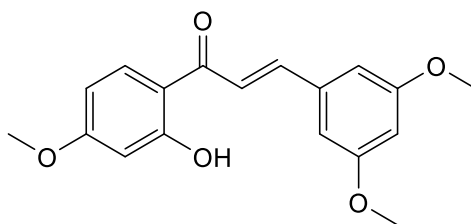
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2'-Hydroxy-4'-methoxyacetophenon (1,66 g; 10 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (1,66 g; 10 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 55 %).

Summenformel:  $C_{18}H_{18}O_5$

Molekulargewicht: 313,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.61 (s, 1H), 8.26 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.54 (dd, *J* = 8.8, 1.8 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.93, 165.96 (2C), 151.66, 149.22, 144.73, 132.70, 127.59, 124.46, 118.88, 114.14, 111.76, 111.13, 107.26, 101.15, 55.94, 55.83, 55.78 ppm.

**92 (E)-3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK 207)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus 2'-Hydroxy-4'-methoxyacetophenone (1,66 g; 10 mmol) und 3,5-Dimethoxybenzaldehyd (1,66 g; 10 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %).

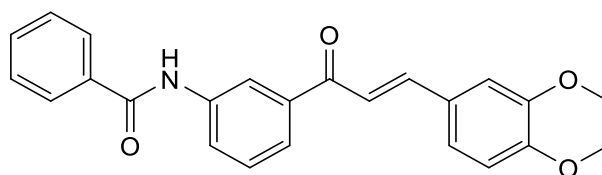
Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 313,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.42 (s, 1H), 8.28 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.59 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.55 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.00, 166.21, 160.89 (2C), 144.30, 141.33, 136.64, 132.97, 122.01, 114.11, 107.09 (2C), 104.75, 103.19, 101.13, 55.90, 55.61 ppm (2C).

#### 7.1.3.8 Darstellung der Acryloylphenylcarboxamide

Das 2'-, 3'- oder 4'-Aminochalkon (1 äquiv.) wurde mit dem jeweiligen Säurechlorid (1 äquiv.) in THF (20 ml) gelöst und mit einem Überschuss an Triethylamin versetzt. Es bildete sich dabei in kürzester Zeit ein weißer Niederschlag (Triethylammoniumchlorid). Die Mischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wurde das ausgefallene Triethylammoniumchlorid abfiltriert und mit THF nachgewaschen. Die so erhaltene Lösung wurde unter Vakuum einrotiert, der Rückstand mit wenig Ethanol aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Nach anschließender Heißfiltration des Produktes erfolgte die Trocknung bei 50 °C.

93 (*E*)-N-(3-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 152)

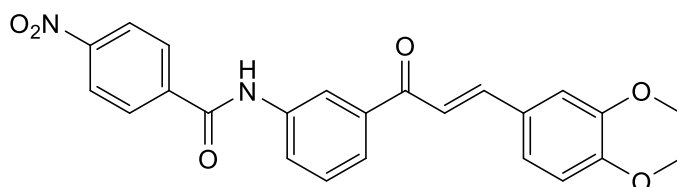
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(3-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**82**; 71 mg; 0,25 mmol) und Benzoylchlorid (42 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

Molekulargewicht: 387,44 g/mol

Schmelzpunkt: 166-167 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.43 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 8.41 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.11 (dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, 1H), 8.01 – 7.98 (m, 2H), 7.95 – 7.92 (m, 1H), 7.77 – 7.70 (m, 2H), 7.63 – 7.58 (m, 1H), 7.57 – 7.51 (m, 4H), 7.39 (dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 189.52, 166.16, 151.82, 149.51, 145.16, 140.09, 138.87, 135.09, 132.20, 129.47, 128.88 (2C), 128.15 (2C), 127.94, 125.13, 124.42, 124.25, 120.44, 120.26, 112.11, 111.43, 56.24, 56.10 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>: C, 74.40; H, 5.46; N, 3.62. Gefunden: C, 74.02; H, 5.44; N, 3.56.

94 (*E*)-N-(3-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-4-nitrobenzamid (STK 153)

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(3-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**82**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-Nitrobenzoylchlorid (56 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

Molekulargewicht: 432,43 g/mol

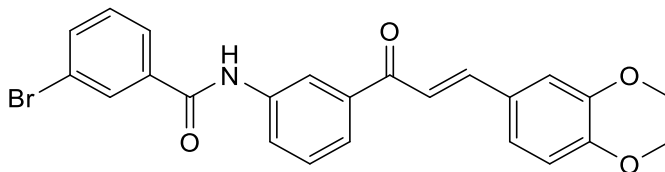
Schmelzpunkt: 239-240 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.74 (s, 1H), 8.42 – 8.35 (m, 3H), 8.26 – 8.20 (m, 2H), 8.11 (dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, 1H), 7.99 – 7.96 (m, 1H), 7.78 – 7.69 (m, 2H), 7.59 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 189.08, 164.15, 151.51, 149.40, 149.17, 144.90, 140.37, 139.27, 138.58, 129.37 (2C), 129.25, 127.57, 124.88, 124.57, 123.93, 123.68 (2C), 120.22, 119.85, 111.78, 111.12, 55.89, 55.75 ppm.



EA berechnet für  $C_{24}H_{20}N_2O_6$ : C, 66.66; H, 4.66; N, 6.48. Gefunden: C, 66.72; H, 4.82; N, 6.27.

**95 (E)-3-Brom-N-(3-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 154)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(3-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**82**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Brombenzoylchlorid (66 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

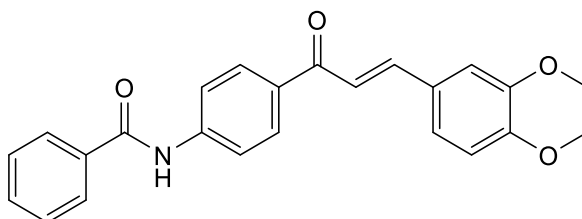
Molekulargewicht: 466,33 g/mol

Schmelzpunkt: 172-174 °C

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.53 (s, 1H), 8.38 (t,  $J$  = 1.8 Hz, 1H), 8.19 (t,  $J$  = 1.8 Hz, 1H), 8.11 (dd,  $J$  = 8.1, 1.3 Hz, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.82 – 7.80 (m, 1H), 7.77 – 7.70 (m, 2H), 7.57 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 2H), 7.39 (dd,  $J$  = 8.3, 1.9 Hz, 1H), 7.03 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 189.11, 164.21, 151.48, 149.16, 144.86, 139.45, 138.53, 136.86, 134.57, 130.80, 130.38, 129.18, 127.57, 127.03, 124.81, 124.33, 123.92, 121.82, 120.13, 119.86, 111.76, 111.09, 55.88, 55.74 ppm.

EA berechnet für  $C_{24}H_{20}BrNO_4$ : C, 61.82; H, 4.32; N, 3.00. Gefunden: C, 61.42; H, 4.69; N, 2.94.

**96 (E)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 150)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und Benzoylchlorid (42 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

Summenformel:  $C_{24}H_{21}NO_4$

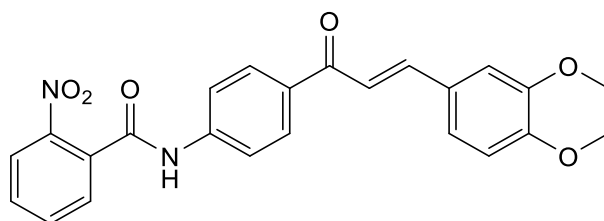
Molekulargewicht: 387,44 g/mol

Schmelzpunkt: 180-181 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 10.55 (s, 1H), 8.21 – 8.17 (m, 2H), 8.02 – 7.96 (m, 4H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.65 – 7.59 (m, 1H), 7.57 – 7.52 (m, 3H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  
**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 187.65, 166.14, 151.37, 149.20, 144.05, 143.65, 134.76, 133.07, 132.02, 129.72 (2C), 128.59 (2C), 127.93 (2C), 127.79, 123.98, 119.71, 119.66 (2C), 111.77, 110.95, 55.93, 55.76 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>: C, 74.40; H, 5.46; N, 3.62. Gefunden: C, 74.15; H, 5.82; N, 3.51.

**97 (E)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-2-nitrobenzamid (STK 162)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 2-Nitrobenzoylchlorid (56 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 54 %).

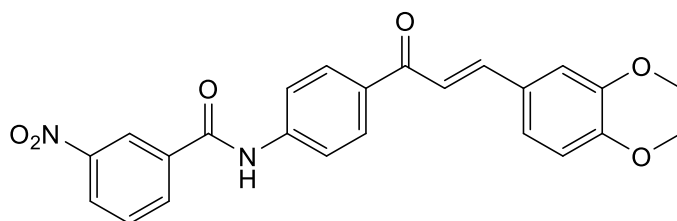
Molekulargewicht: 432,43 g/mol

Schmelzpunkt: 121-123 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.00 (s, 1H), 8.21 – 8.17 (m, 3H), 7.89 (td, *J* = 7.5, 0.9 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.84 – 7.80 (m, 2H), 7.80 – 7.77 (m, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 188.02, 165.05, 151.73, 149.53, 146.80, 144.55, 143.46, 134.72, 133.72, 132.82, 131.69, 130.28 (2C), 129.80, 128.08, 124.81, 124.33, 120.02, 119.47 (2C), 112.08, 111.27, 56.25, 56.09 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 66.66; H, 4.66; N, 6.48. Gefunden: C, 66.42; H, 4.78; N, 6.42.

**98 (E)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-3-nitrobenzamid (STK 163)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Nitrobenzoylchlorid (56 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 36 %).

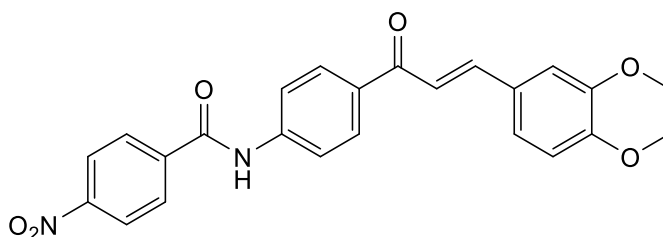
Molekulargewicht: 432,43 g/mol

Schmelzpunkt: 198-199 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.88 (s, 1H), 8.81 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.47 – 8.45 (m, 1H), 8.44 – 8.41 (m, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.88 – 7.82 (m, 2H), 7.70 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.67, 163.96, 151.40, 149.20, 147.92, 144.21, 143.12, 136.12, 134.47, 133.49, 130.41, 129.76 (2C), 127.75, 126.58, 124.04, 122.71, 119.95 (2C), 119.65, 111.75, 110.93, 55.93, 55.76 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 66.66; H, 4.66; N, 6.48. Gefunden: C, 66.54; H, 4.74; N, 6.31.

**99 (*E*)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-4-nitrobenzamid (STK 151)**



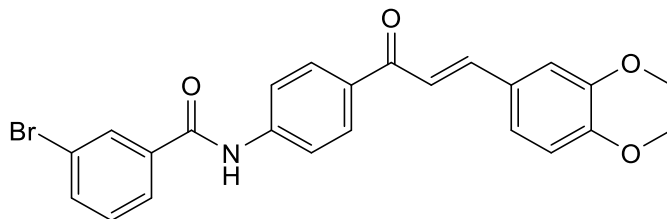
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-Nitrobenzoylchlorid (56 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 65 %).

Molekulargewicht: 432,43 g/mol

Schmelzpunkt: 224-225 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.85 (s, 1H), 8.40 – 8.36 (m, 2H), 8.23 – 8.18 (m, 4H), 8.01 – 7.97 (m, 2H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.69, 164.51, 151.42, 149.49, 149.22, 144.21, 143.12, 140.39, 133.54, 129.77 (2C), 129.52 (2C), 127.77, 124.03, 123.73 (2C), 119.89 (2C), 119.68, 111.78, 110.98, 55.94, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 66.66; H, 4.66; N, 6.48. Gefunden: C, 66.72; H, 4.77; N, 6.29.

**100 (E)-3-Brom-N-(4-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 156)**

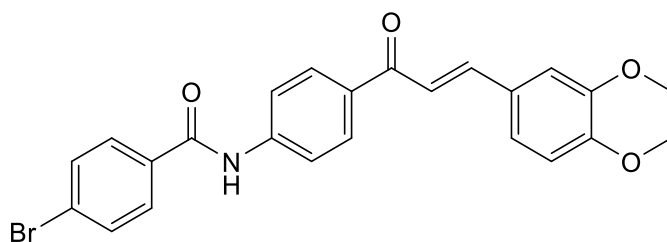
Herstellung: Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Brombenzoylchlorid (66 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

Molekulargewicht: 466,33 g/mol

Schmelzpunkt: 169-170 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.64 (s, 1H), 8.21 – 8.18 (m, 2H), 8.17 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.00 – 7.96 (m, 3H), 7.83 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.83 – 7.79 (m, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.65, 164.55, 151.38, 149.19, 144.12, 143.31, 136.89, 134.72, 133.29, 130.84, 130.49, 129.71 (2C), 127.76, 127.14, 123.98, 121.84, 119.78 (2C), 119.67, 111.76, 110.95, 55.92, 55.75 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>BrNO<sub>4</sub>: C, 61.82; H, 4.32; N, 3.00. Gefunden: C, 61.52; H, 4.72; N, 3.07.

**101 (E)-4-Brom-N-(4-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 160)**

Herstellung: Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-Brombenzoylchlorid (66 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 33 %).

Molekulargewicht: 466,33 g/mol

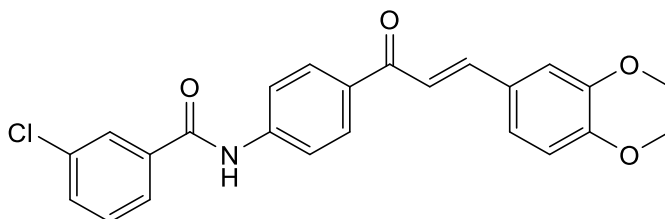
Schmelzpunkt: 189-191 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.61 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.95 – 7.92 (m, 2H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.69 (d, *J* =

15.5 Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.38 (dd,  $J = 8.3, 1.8$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 187.65, 165.16, 151.39, 149.20, 144.13, 143.44, 133.80, 133.22, 131.63 (2C), 130.09 (2C), 129.75 (2C), 127.78, 125.86, 124.02, 119.75 (2C), 119.67, 111.75, 110.93, 55.93, 55.77 ppm.

EA berechnet für  $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{BrNO}_4$ : C, 61.82; H, 4.32; N, 3.00. Gefunden: C, 61.86; H, 4.32; N, 3.00.

**102 (E)-3-Chlor-N-(4-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 168)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Chlorbenzoylchlorid (53 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

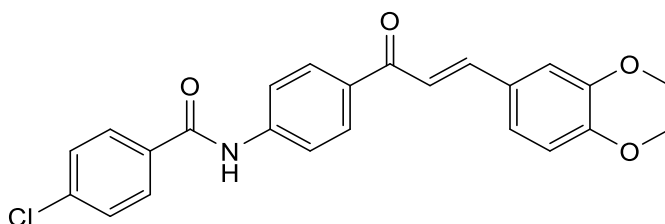
Molekulargewicht: 421,88 g/mol

Schmelzpunkt: 161-162 °C

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.64 (s, 1H), 8.21 – 8.19 (m, 2H), 8.03 (t,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 8.00 – 7.97 (m, 2H), 7.95 – 7.92 (m, 1H), 7.84 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 7.71 – 7.66 (m, 2H), 7.59 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.38 (dd,  $J = 8.4, 1.9$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 187.64, 164.65, 151.37, 149.18, 144.13, 143.32, 136.70, 133.39, 133.28, 131.83, 130.60, 129.73 (2C), 127.75, 127.67, 126.78, 124.01, 119.77 (2C), 119.65, 111.73, 110.91, 55.91, 55.74 ppm.

EA berechnet für  $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{ClNO}_4$ : C, 68.33; H, 4.78; N, 3.32. Gefunden: C, 68.55; H, 4.87; N, 3.21.

**103 (E)-4-Chlor-N-(4-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 161)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-Chlorbenzoylchlorid (53 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 51 %).

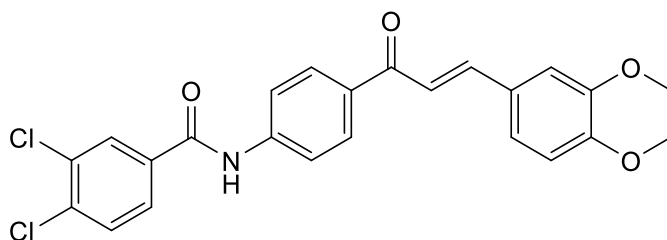
Molekulargewicht: 421,88 g/mol

Schmelzpunkt: 192-193 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.61 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.03 – 8.00 (m, 2H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.64 – 7.61 (m, 2H), 7.54 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.66, 165.05, 151.40, 149.22, 144.14, 143.46, 136.92, 133.46, 133.23, 129.95 (2C), 129.76 (2C), 128.70 (2C), 127.79, 124.04, 119.76 (2C), 119.69, 111.77, 110.94, 55.94, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>4</sub>: C, 68.33; H, 4.78; N, 3.32. Gefunden: C, 68.20; H, 5.09; N, 3.41.

**104 (*E*)-3,4-Dichlor-N-(4-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 169)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3,4-Dichlorbenzoylchlorid (63 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 31 %).

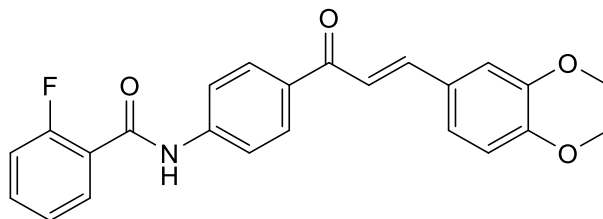
Molekulargewicht: 456,32 g/mol

Schmelzpunkt: 164-165 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.67 (s, 1H), 8.24 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.22 – 8.18 (m, 2H), 7.99 – 7.95 (m, 3H), 7.85 – 7.81 (m, 2H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.67, 163.76, 151.41, 149.21, 144.17, 143.17, 135.02, 134.84, 133.41, 131.51, 130.97, 129.89, 129.75 (2C), 128.33, 127.77, 124.02, 119.84 (2C), 119.67, 111.77, 110.97, 55.94, 55.77 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>4</sub>: C, 63.17; H, 4.20; N, 3.07. Gefunden: C, 63.16; H, 4.30; N, 3.20.

**105 (E)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-2-fluorbenzamid (STK 164)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 2-Fluorbenzoylchlorid (48 mg, 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 38 %).

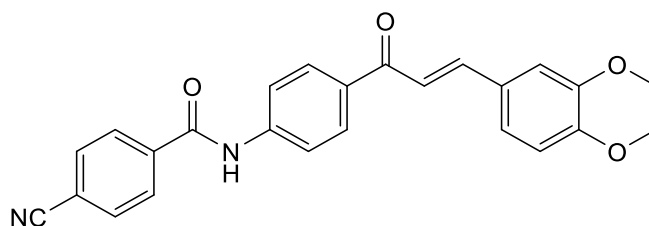
Molekulargewicht: 405,43 g/mol

Schmelzpunkt: 142-143 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.75 (s, 1H), 8.21 – 8.17 (m, 2H), 7.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.71 – 7.66 (m, 2H), 7.63 – 7.58 (m, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.40 – 7.33 (m, 3H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.63, 163.37, 159.06 (d, *J* = 249.1 Hz, 1C), 158.23, 151.39, 149.20, 144.16, 143.18, 133.28, 132.97 (d, *J* = 8.3 Hz, 1C), 130.09, 129.89 (2C), 124.86, 124.77 (d, *J* = 2.8 Hz, 1C), 124.02, 119.67, 119.22 (2C), 116.36 (d, *J* = 21.7 Hz, 1C), 111.75, 110.91, 55.91, 55.76 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 71.10; H, 4.97; N, 3.45. Gefunden: C, 71.26; H, 5.34; N, 3.49.

**106 (E)-4-Cyano-N-(4-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 165)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-Cyanobenzoylchlorid (50 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 51 %).

Molekulargewicht: 412,44 g/mol

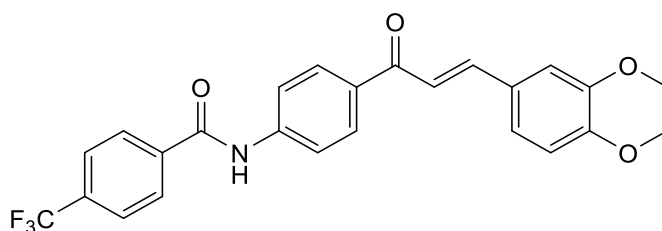
Schmelzpunkt: 190-192 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.78 (s, 1H), 8.20 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.14 – 8.11 (m, 2H), 8.06 – 8.03 (m, 2H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* =

15.5 Hz, 1H), 7.53 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.38 (dd,  $J = 8.3, 1.9$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 187.67, 164.79, 151.41, 149.21, 144.21, 143.18, 138.77, 133.46, 132.66 (2C), 129.78 (2C), 128.83 (2C), 127.76, 124.05, 119.84 (2C), 119.65, 118.41, 114.27, 111.76, 110.93, 55.93, 55.77 ppm.

EA berechnet für  $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$ : C, 72.80; H, 4.89; N, 6.79. Gefunden: C, 72.43; H, 5.21; N, 6.56.

**107 (E)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-4-(trifluormethyl)benzamid (STK 166)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-(Trifluormethyl)benzoylchlorid (63 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 56 %).

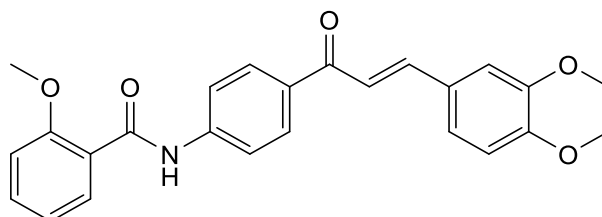
Molekulargewicht: 455,43 g/mol

Schmelzpunkt: 194-195 °C

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.77 (s, 1H), 8.21 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.17 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.99 (dd,  $J = 6.6, 4.8$  Hz, 2H), 7.93 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 7.84 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 7.69 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.38 (dd,  $J = 8.4, 1.9$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 187.69, 165.03, 151.43, 149.23, 144.21, 143.29, 138.60, 133.42, 131.78 (q,  $J = 31.9$  Hz), 129.80 (2C), 128.93 (2C), 127.79, 125.62 (d,  $J = 3.5$  Hz, 2C), 124.16 (m), 124.06 (q,  $J = 272.4$  Hz), 119.84 (2C), 119.68, 111.78, 110.95, 55.95, 55.79 ppm.

EA berechnet für  $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{NO}_4$ : C, 65.93; H, 4.43; N, 3.08. Gefunden: C, 66.07; H, 4.76; N, 3.07.

**108 (E)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-2-methoxybenzamid (STK 159)**





**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (52 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 32 %).

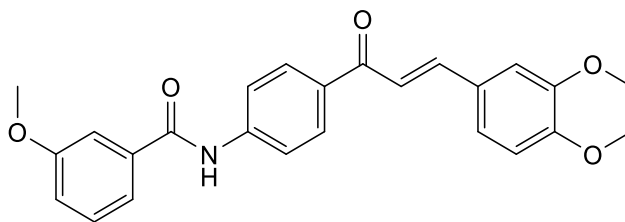
Molekulargewicht: 417,46 g/mol

Schmelzpunkt: 140-141 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.44 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.92 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 7.5, 1.7 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.52 – 7.50 (m, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.3, 1.8 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.07 (td, *J* = 7.5, 0.6 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.62, 165.29, 156.67, 151.38, 149.21, 144.07, 143.45, 132.96, 132.41, 129.88 (2C), 129.76, 127.80, 125.03, 123.97, 120.67, 119.73, 119.15 (2C), 112.21, 111.77, 110.97, 56.09, 55.93, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36. Gefunden: C, 71.54; H, 5.93; N, 3.33.

**109 (*E*)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-3-methoxybenzamid (STK 155)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Methoxybenzoylchlorid (52 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

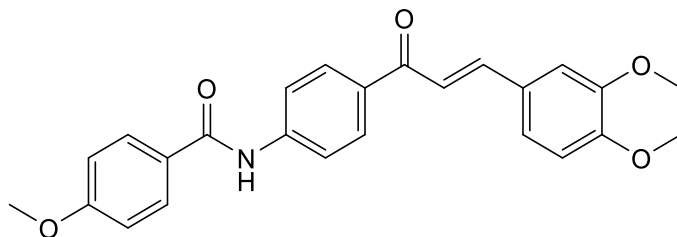
Molekulargewicht: 417,46 g/mol

Schmelzpunkt: 161-162 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.51 (s, 1H), 8.21 – 8.16 (m, 2H), 8.01 – 7.97 (m, 2H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.58 – 7.55 (m, 1H), 7.54 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 2.4, 1.7 Hz, 1H), 7.46 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.20 – 7.17 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.64, 165.85, 159.37, 151.38, 149.21, 144.07, 143.58, 136.14, 133.10, 129.77, 129.71 (2C), 127.79, 123.98, 120.14, 119.73 (2C), 119.71, 117.77, 113.23, 111.77, 110.96, 55.93, 55.76, 55.53 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36. Gefunden: C, 71.94; H, 5.58; N, 3.58.

**110 (*E*)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-4-methoxybenzamid  
(STK 157)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-Methoxybenzoylchlorid (52 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 37 %).

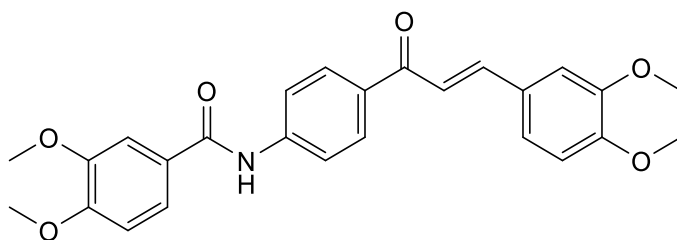
Molekulargewicht: 417,46 g/mol

Schmelzpunkt: 187-189 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.40 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.00 - 7.97 (m, 4H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.10 - 7.06 (m, 2H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 187.61, 165.45, 162.34, 151.36, 149.20, 144.01, 143.91, 132.83, 129.96 (2C), 129.72 (2C), 127.80, 126.73, 123.99, 119.71, 119.58 (2C), 113.84 (2C), 111.75, 110.92, 55.93, 55.76, 55.63 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36. Gefunden: C, 71.99; H, 5.56; N, 3.32.

**111 (*E*)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-3,4-dimethoxybenzamide (STK 158)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid (61 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 31 %).

Molekulargewicht: 447,49 g/mol

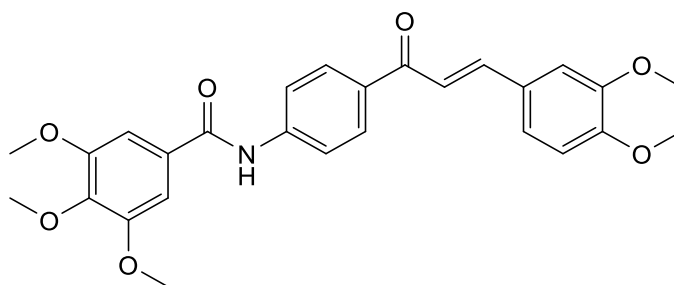
Schmelzpunkt: 93-96 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.37 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H),

7.55 (dd,  $J = 8.8, 1.9$  Hz, 2H), 7.38 (dd,  $J = 8.3, 1.8$  Hz, 1H), 7.10 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 187.62, 165.47, 152.13, 151.37, 149.21, 148.55, 144.01, 143.84, 132.88, 129.70 (2C), 127.81, 126.76, 123.97, 121.47, 119.71, 119.69 (2C), 111.77, 111.40, 111.13, 110.97, 55.94, 55.88, 55.85, 55.76 ppm.

EA berechnet für  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{NO}_6$ : C, 69.79; H, 5.63; N, 3.13. Berechnet \* 0,5  $\text{H}_2\text{O}$ : C, 68.41; H, 5.74; N, 3.07. Gefunden: C, 68.34; H, 5.88; N, 3.07.

**112 (E)-N-(4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-3,4,5-trimethoxybenzamid (STK 167)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus (E)-1-(4-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**83**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3,4,5-Trimethoxybenzoylchlorid (69 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 39 %).

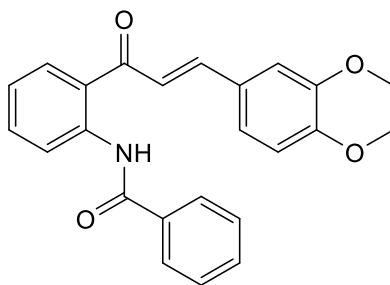
Molekulargewicht: 477,51 g/mol

Schmelzpunkt: 184-185 °C

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.42 (s, 1H), 8.20 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.96 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.85 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 7.69 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 7.38 (dd,  $J = 8.3, 1.7$  Hz, 1H), 7.30 (s, 2H), 7.02 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 3.88 (s, 6H), 3.86 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.74 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 187.64, 165.51, 152.83 (2C), 151.40, 149.22, 144.12, 143.59, 140.81, 133.10, 129.83, 129.74 (2C), 127.80, 124.02, 119.87 (2C), 119.68, 111.77, 110.97, 105.71, 60.31, 56.34 (3C), 55.95, 55.78 ppm.

EA berechnet für  $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{NO}_7$ : C, 67.91; H, 5.70; N, 2.93. Gefunden: C, 67.63; H, 5.71; N, 2.99.

**113 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 175)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und Benzoylchlorid (42 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 48 %).

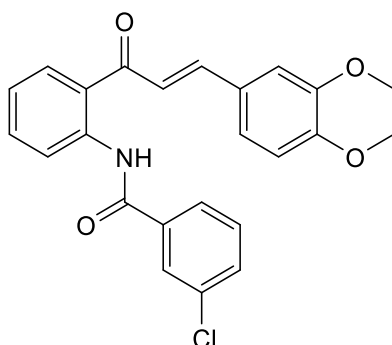
Molekulargewicht: 387,44 g/mol

Schmelzpunkt: 154-155 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.45 (s, 1H), 8.61 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.02 – 7.96 (m, 2H), 7.85 – 7.76 (m, 2H), 7.73 – 7.68 (m, 1H), 7.67 – 7.62 (m, 1H), 7.62 – 7.57 (m, 2H), 7.52 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, 1H), 7.35 – 7.31 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 193.04, 165.12, 151.71, 149.17, 145.85, 140.17, 134.58, 134.30, 132.27, 131.42, 129.04 (2C), 127.49, 127.24 (2C), 125.31, 124.47, 123.46, 121.16, 120.81, 111.75, 111.06, 55.88, 55.76 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>: C, 74.40; H, 5.46; N, 3.62. Gefunden: C, 74.06; H, 5.58; N, 3.71.

**114 (*E*)-3-Chlor-N-(2-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 171)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Chlorbenzoylchlorid (53 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 26 %).

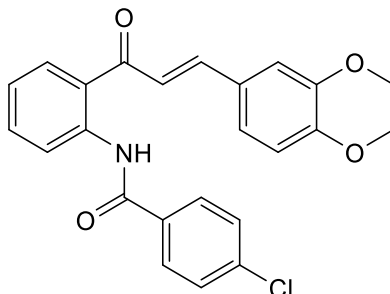
Molekulargewicht: 421,88 g/mol

Schmelzpunkt: 140-141 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.23 (s, 1H), 8.44 (dd, *J* = 8.3, 1.0 Hz, 1H), 8.25 (dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H), 7.95 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.93 – 7.89 (m, 1H), 7.74 (s, 2H), 7.71 – 7.67 (m, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 – 7.33 (m, 2H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 192.91, 163.84, 151.70, 149.19, 145.68, 139.35, 136.67, 134.00, 133.82, 132.03, 131.18, 130.99, 127.47, 127.28, 126.64, 125.88, 124.38, 124.03, 121.88, 121.09, 111.76, 111.01, 55.87, 55.77 ppm.

EA berechnet für  $C_{24}H_{20}ClNO_4$ : C, 68.33; H, 4.78; N, 3.32. Gefunden: C, 68.15; H, 4.76; N, 3.37.

**115 (E)-4-Chlor-N-(2-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 172)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und 4-Chlorbenzoylchlorid (53mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 63 %).

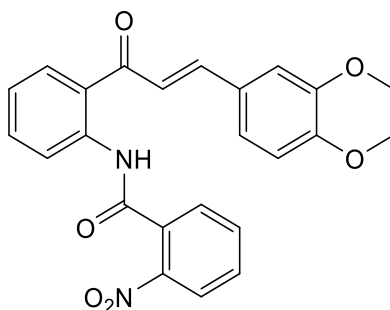
Molekulargewicht: 421,88 g/mol

Schmelzpunkt: 176-177 °C

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.37 (s, 1H), 8.52 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.30 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 8.00 – 7.96 (m, 2H), 7.81 – 7.73 (m, 2H), 7.71 – 7.64 (m, 3H), 7.50 (d,  $J$  = 1.8 Hz, 1H), 7.38 (dd,  $J$  = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 7.33 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.01 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 193.00, 164.11, 151.73, 149.19, 145.81, 139.79, 137.14, 134.19, 133.34, 131.34, 129.18 (2C), 129.13 (2C), 127.47, 125.83, 124.46, 123.74, 121.46, 120.92, 111.76, 111.04, 55.89, 55.77 ppm.

EA berechnet für  $C_{24}H_{20}ClNO_4$ : C, 68.33; H, 4.78; N, 3.32. Gefunden: C, 68.00; H, 4.77; N, 3.29.

**116 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-2-nitrobenzamid (STK 173)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und 2-Nitrobenzoylchlorid (56 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 56 %).

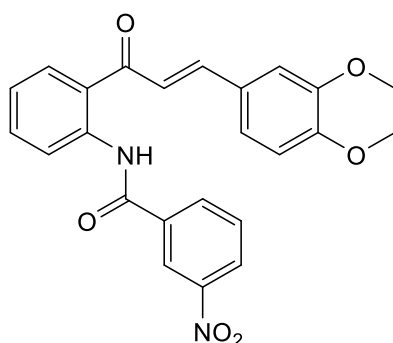
Molekulargewicht: 432,43 g/mol

Schmelzpunkt: 189-190 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.70 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.14 – 8.10 (m, 2H), 7.86 – 7.82 (m, 1H), 7.80 – 7.74 (m, 2H), 7.71 – 7.66 (m, 1H), 7.63 (s, 2H), 7.48 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.40 – 7.35 (m, 1H), 7.34 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.60, 163.99, 151.61, 149.16, 147.03, 145.48, 137.99, 134.08, 133.42, 132.11, 131.61, 130.63, 128.65, 128.22, 127.39, 124.60, 124.58, 124.23, 122.39, 121.57, 111.73, 110.93, 55.84, 55.73 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 66.66; H, 4.66; N, 6.48. Gefunden: C, 66.88; H, 4.69; N, 6.35.

**117 (*E*)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-3-nitrobenzamid (STK 174)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (84; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Nitrobenzoylchlorid (56 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 65 %).

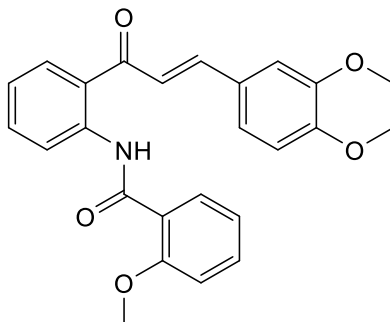
Molekulargewicht: 432,43 g/mol

Schmelzpunkt: 185-186 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.26 (s, 1H), 8.73 – 8.71 (m, 1H), 8.48 – 8.43 (m, 1H), 8.36 (dd, *J* = 7.0, 6.5 Hz, 2H), 8.22 (dd, *J* = 7.9, 1.3 Hz, 1H), 7.87 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.72 – 7.68 (m, 3H), 7.46 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.36 – 7.33 (m, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.88, 163.21, 151.67, 149.16, 148.16, 145.58, 138.84, 136.04, 133.83, 133.42, 131.04, 130.78, 127.48, 127.43, 126.66, 124.42, 124.29, 122.37, 122.26, 121.30, 111.74, 110.96, 55.85, 55.76 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 66.66; H, 4.66; N, 6.48. Gefunden: C, 66.23; H, 4.57; N, 6.51.

**118 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-2-methoxybenzamid  
(STK 176)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (52 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 53 %).

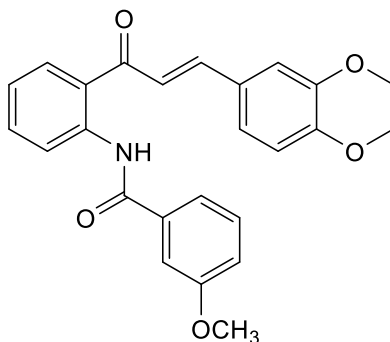
Molekulargewicht: 417,46 g/mol

Schmelzpunkt: 138-139 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.13 (s, 1H), 8.67 (dd, *J* = 8.4, 0.9 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 7.98 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 7.66 – 7.62 (m, 1H), 7.60 – 7.55 (m, 1H), 7.50 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.30 – 7.26 (m, 1H), 7.25 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.13 – 7.08 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.10 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 192.58, 163.69, 157.30, 151.65, 149.19, 145.60, 138.96, 133.70, 133.38, 131.49, 130.74, 127.46, 126.66, 124.22, 123.18, 122.07, 121.96, 121.84, 120.94, 112.41, 111.76, 111.14, 56.06, 55.89, 55.77 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36. Gefunden: C, 71.84; H, 5.67; N, 3.39.

**119 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-3-methoxybenzamid  
(STK 177)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und 3-Methoxybenzoylchlorid (52 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 31 %).

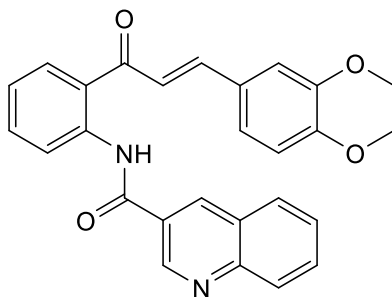
Molekulargewicht: 417,46 g/mol

Schmelzpunkt: 153-154 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.37 (s, 1H), 8.56 (dd, *J* = 8.3, 1.0 Hz, 1H), 8.31 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.82 – 7.74 (m, 2H), 7.71 – 7.67 (m, 1H), 7.57 – 7.54 (m, 1H), 7.53 – 7.48 (m, 3H), 7.39 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.35 – 7.30 (m, 1H), 7.22 – 7.19 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.03, 164.93, 159.69, 151.72, 149.19, 145.80, 140.02, 136.10, 134.25, 131.40, 130.25, 127.51, 125.59, 124.45, 123.57, 121.28, 120.91, 119.21, 117.86, 112.88, 111.77, 111.09, 55.89, 55.79, 55.50 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36. Gefunden: C, 71.99; H, 5.75; N, 3.32.

**120 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)chinoline-3-carboxamid (STK 178)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und Chinolon-3-carbonylchlorid (58 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 33 %).

Molekulargewicht: 438,48 g/mol

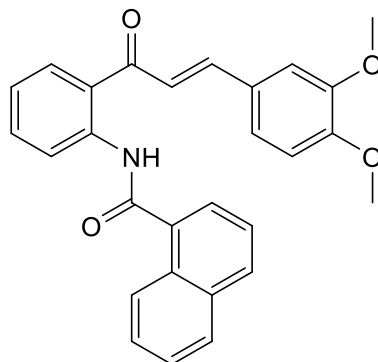
Schmelzpunkt: 165-167 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.34 (s, 1H), 9.38 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.92 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.43 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 8.24 (dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H), 8.16 – 8.10 (m, 2H), 7.93 – 7.88 (m, 1H), 7.74 (s, 2H), 7.74 – 7.70 (m, 2H), 7.48 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 – 7.34 (m, 2H), 6.99 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.79 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.88, 163.94, 151.66, 149.18, 148.84, 148.54, 145.64, 139.15, 136.06, 133.90, 131.82, 131.08, 129.43, 128.98, 127.81, 127.47, 127.38, 127.26, 126.63, 124.33, 124.23, 122.25, 121.26, 111.75, 110.97, 55.85, 55.76 ppm.

EA berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 73.96; H, 5.06; N, 6.39. Gefunden: C, 73.83; H, 5.15; N, 6.40.



**121 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-1-naphthamid (STK 179)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und 1-Naphthoylchlorid (57 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 58 %).

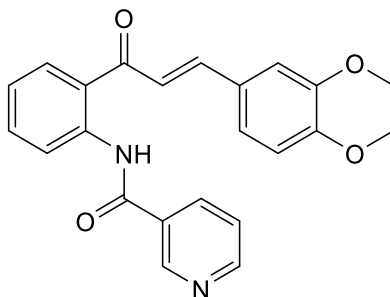
Molekulargewicht: 437,50 g/mol

Schmelzpunkt: 150-152 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 11.86 (s, 1H), 8.44 (dd, *J* = 8.2, 0.9 Hz, 1H), 8.35 – 8.32 (m, 1H), 8.19 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.04 – 8.01 (m, 1H), 7.86 (dd, *J* = 7.1, 1.2 Hz, 1H), 7.73 – 7.67 (m, 2H), 7.64 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.61 – 7.55 (m, 3H), 7.47 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 – 7.34 (m, 1H), 7.33 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 192.79, 167.30, 151.63, 149.20, 145.48, 139.08, 134.22, 133.68, 133.49, 131.09, 130.86, 129.83, 128.55, 127.52, 127.43, 127.31, 126.67, 125.71, 125.31, 125.21, 124.27, 124.07, 122.08, 121.48, 111.77, 111.01, 55.89, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>: C, 76.87; H, 5.30; N, 3.20. Gefunden: C, 76.89; H, 5.27; N, 3.34.

**122 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)nicotinamid (STK 183)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und Nicotinoylchlorid Hydrochlorid (54 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 22 %).

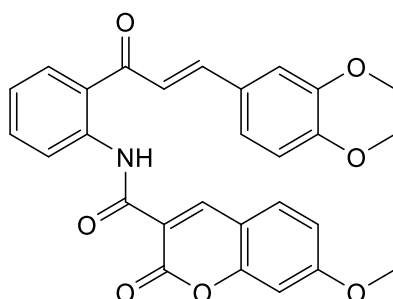
Molekulargewicht: 388,42 g/mol

Schmelzpunkt: 192-194 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.30 (s, 1H), 9.14 (dd, *J* = 2.3, 0.8 Hz, 1H), 8.79 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.45 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 8.31 – 8.28 (m, 1H), 8.27 (dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H), 7.75 (s, 2H), 7.73 – 7.67 (m, 1H), 7.63 – 7.59 (m, 1H), 7.50 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 – 7.34 (m, 2H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.92, 163.81, 152.75, 151.71, 149.18, 148.43, 145.79, 139.29, 135.12, 134.02, 131.18, 130.24, 127.47, 126.66, 124.43, 124.10, 124.02, 121.89, 121.03, 111.76, 110.99, 55.88, 55.77 ppm.

EA berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 71.12; H, 5.19; N, 7.21. Gefunden: C, 70.90; H, 5.31; N, 6.94.

**123 (*E*)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)-7-methoxy-2-oxo-2H-chromen-3-carboxamid (STK 187)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und 7-Methoxy-cumarin-3-carbonylchlorid (72 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

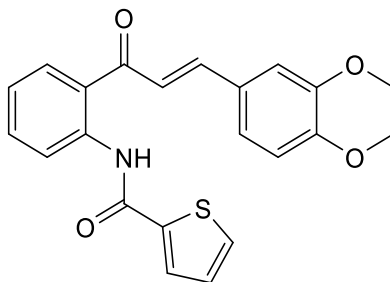
Molekulargewicht: 485,49 g/mol

Schmelzpunkt: 213-214 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.19 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.50 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.08 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.69 – 7.59 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.38 – 7.29 (m, 2H), 7.13 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.04 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.02, 164.97, 160.79, 160.31, 156.68, 151.60, 149.25, 149.18, 145.56, 137.80, 132.92, 131.96, 130.42, 128.17, 127.46, 124.17, 123.92, 122.96, 121.97, 114.99, 113.89, 112.35, 111.74, 111.00, 100.43, 56.47, 55.87, 55.75 ppm.

EA berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>: C, 69.27; H, 4.78; N, 2.89. Gefunden: C, 68.93; H, 4.85; N, 3.01.

**124 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)thiophen-2-carboxamid (STK 188)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**84**; 71 mg; 0,25 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (44 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 59 %).

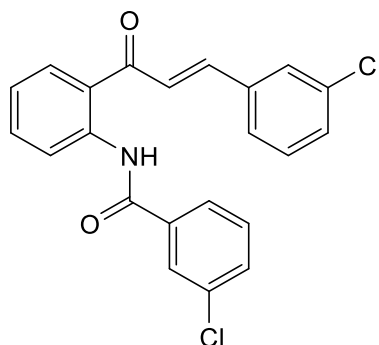
Molekulargewicht: 485,49 g/mol

Schmelzpunkt: 198-199 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.40 (s, 1H), 8.46 (dd, *J* = 8.4, 1.0 Hz, 1H), 8.31 (dd, *J* = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 7.92 (dd, *J* = 5.0, 1.1 Hz, 1H), 7.85 (dd, *J* = 3.8, 1.2 Hz, 1H), 7.82 – 7.75 (m, 2H), 7.71 – 7.66 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.34 – 7.30 (m, 1H), 7.27 (dd, *J* = 5.0, 3.7 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.01, 159.89, 151.75, 149.20, 145.88, 139.78, 139.72, 134.30, 132.64, 131.42, 129.09, 128.56, 127.50, 125.43, 124.53, 123.58, 121.29, 120.84, 111.76, 111.01, 55.89, 55.79 ppm.

EA berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S: C, 67.16; H, 4.87; N, 3.56. Gefunden: C, 66.87; H, 4.77; N, 3.95.

**125 (E)-3-Chlor-N-(2-(3-(3-chlorphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 182)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3-chlorphenyl)prop-2-en-1-on (**85**; 64 mg; 0,25 mmol) und 3-Chlorbenzoylchlorid (53 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 72 %).

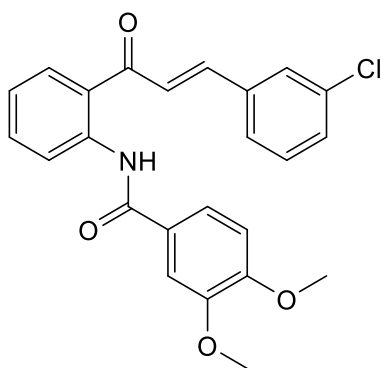
Molekulargewicht: 396,27 g/mol

Schmelzpunkt: 142-143 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.04 (s, 1H), 8.38 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 8.25 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 8.00 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.94 (dd, *J* = 2.8, 1.1 Hz, 1H), 7.92 – 7.87 (m, 2H), 7.77 (dt, *J* = 7.3, 1.2 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.71 – 7.67 (m, 2H), 7.60 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 2H), 7.37 – 7.32 ppm (m, 1H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 192.82, 163.95, 142.99, 139.23, 136.87, 136.55, 134.28, 133.93, 133.79, 132.03, 131.36, 130.94, 130.78, 130.38, 128.13, 127.97, 127.28, 126.70, 125.91, 125.25, 124.16, 122.07 ppm.

EA berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>: C, 66.68; H, 3.82; N, 3.53. Gefunden: C, 66.59; H, 3.86; N, 3.75.

**126 (*E*)-N-(2-(3-(3-Chlorphenyl)acryloyl)phenyl)-3,4-dimethoxybenzamid (STK 184)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Aminophenyl)-3-(3-chlorphenyl)prop-2-en-1-on (**85**; 64 mg; 0,25 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid (61 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

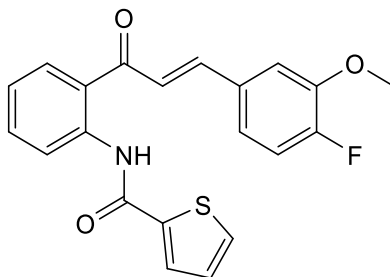
Molekulargewicht: 421,88 g/mol

Schmelzpunkt: 167-168 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.15 (s, 1H), 8.52 (dd, *J* = 8.4, 1.1 Hz, 1H), 8.31 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 8.02 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.78 (dt, *J* = 7.3, 1.3 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.70 – 7.68 (m, 1H), 7.59 (dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 2H), 7.32 – 7.27 (m, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.84 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 193.01, 164.85, 152.26, 148.86, 142.99, 140.33, 136.93, 134.58, 133.93, 131.64, 130.80, 130.39, 128.14, 128.05, 126.77, 125.35, 125.15, 123.35, 121.29, 120.40, 111.47, 110.88, 55.89, 55.73 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>4</sub>: C, 68.33; H, 4.78; N, 3.32. Gefunden: C, 68.49; H, 4.80; N, 3.41.

**127 (E)-N-(2-(3-(4-Fluor-3-methoxyphenyl)acryloyl)phenyl)thiophen-2-carboxamid (STK 185)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(4-fluor-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**86**; 68 mg; 0,25 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (44 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

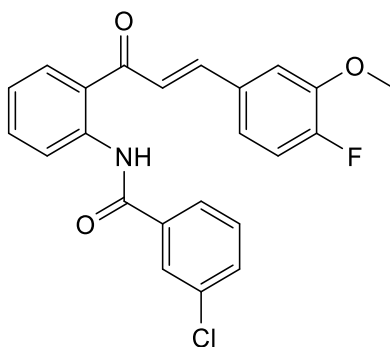
Molekulargewicht: 381,42 g/mol

Schmelzpunkt: 167-168 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.45 (s, 1H), 8.53 (dd, *J* = 8.3, 0.9 Hz, 1H), 8.39 (dd, *J* = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 8.00 – 7.95 (m, 2H), 7.92 – 7.88 (m, 2H), 7.82 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.77 – 7.73 (m, 1H), 7.70 (dd, *J* = 8.5, 1.4 Hz, 1H), 7.39 – 7.36 (m, 1H), 7.34 (dd, *J* = 4.9, 3.7 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.96 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.94, 159.89, 151.72 (d, *J* = 244.3 Hz, 1C), 149.58 (d, *J* = 10.9 Hz, 1C), 144.21, 139.89, 139.67, 134.49, 132.65, 131.56, 129.10, 128.54, 127.92 (d, *J* = 6.9 Hz, 1C), 127.53 (d, *J* = 2.6 Hz, 1C), 125.08, 123.54, 122.19, 121.17, 115.36 (d, *J* = 18.5 Hz, 1C), 113.96, 56.35 ppm.

EA berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>FNO<sub>3</sub>S: C, 66.13; H, 4.23; N, 3.67. Gefunden: C, 65.95; H, 4.24; N, 3.66.

**128 (E)-3-Chlor-N-(2-(3-(4-fluor-3-methoxyphenyl)acryloyl)phenyl)benzamid (STK 186)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Aminophenyl)-3-(4-fluor-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**86**; 68 mg; 0,25 mmol) und 3-Chlorbenzoylchlorid (53 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 75 %).

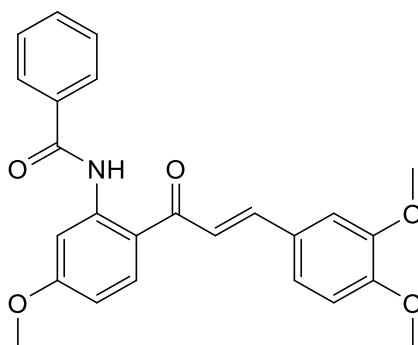
Molekulargewicht: 409,84 g/mol

Schmelzpunkt: 191-192 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO) δ 12.22 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.96 – 7.87 (m, 3H), 7.80 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.74 – 7.68 (m, 3H), 7.65 – 7.60 (m, 2H), 7.35 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.23 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.91 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 193.16, 164.20, 152.04 (d, *J* = 244.5 Hz, 1C), 149.87 (d, *J* = 10.9 Hz, 1C), 144.35, 139.79, 136.98, 134.53, 134.16, 132.37, 131.65, 131.32, 128.24 (d, *J* = 6.7 Hz, 1C), 127.79 (d, *J* = 2.5 Hz, 1C), 127.61, 126.68, 126.21, 124.35, 122.77, 122.13, 115.64 (d, *J* = 18.5 Hz, 1C), 114.27, 56.68 ppm.

EA berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>ClFNO<sub>3</sub>: C, 67.40; H, 4.18; N, 3.42. Berechnet \* 1,0 H<sub>2</sub>O: C, 64.57; H, 4.48; N, 3.27. Gefunden: C, 64.49; H, 4.14; N, 3.24.

**129 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)benzamid  
(STK 191)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 157 mg; 0,5 mmol) und Benzoylchlorid (70 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 58 %).

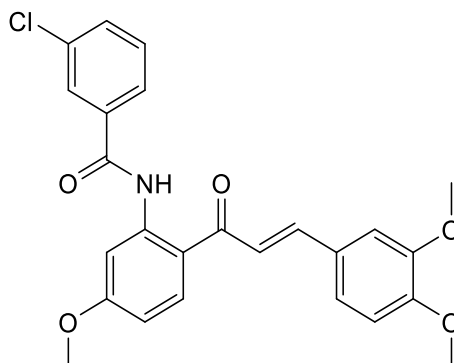
Molekulargewicht: 417,46 g/mol

Schmelzpunkt: 189-190 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.32 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.47 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.03 – 8.00 (m, 2H), 7.91 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.67 – 7.60 (m, 3H), 7.56 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.85 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.65, 165.32, 164.27, 151.61, 149.20, 145.23, 143.72, 134.57, 134.25, 132.46, 129.20 (2C), 127.68, 127.21 (2C), 124.36, 120.36, 116.73, 111.77, 111.17, 108.98, 104.86, 55.94, 55.81, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36. Gefunden: C, 71.52; H, 5.73; N, 3.35.

**130 (E)-3-Chlor-N-(2-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)benzamid (STK 194)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 157 mg; 0,5 mmol) und 3-Chlorbenzoylchlorid (87,5 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 35 %).

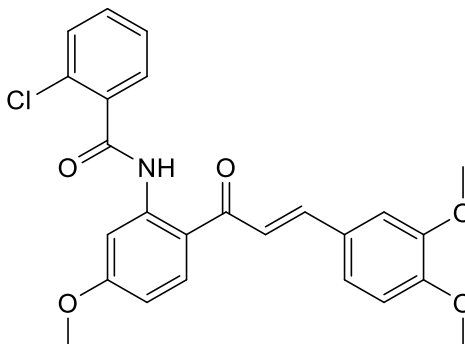
Molekulargewicht: 451,90 g/mol

Schmelzpunkt: 179-180 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.25 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.00 – 7.93 (m, 2H), 7.89 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.82 – 7.71 (m, 2H), 7.66 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.42 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 191.65, 164.19, 163.91, 151.62, 149.20, 145.28, 143.24, 136.67, 134.22, 134.02, 132.25, 131.18, 127.65, 127.24, 125.72, 124.34, 120.40, 117.11, 111.77, 111.19, 109.24, 105.22, 55.93, 55.84, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>5</sub>: C, 66.45; H, 4.91; N, 3.10. Gefunden: C, 66.29; H, 4.95; N, 3.11.

**131 (E)-2-Chlor-N-(2-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)benzamid (STK 199)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 157 mg; 0,5 mmol) und 2-Chlorbenzoylchlorid (87,5 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 33 %).

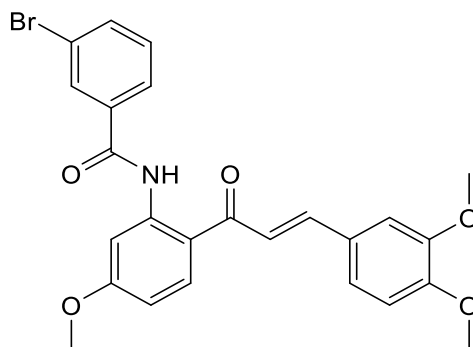
Molekulargewicht: 451,90 g/mol

Schmelzpunkt: 182-184 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.71 (s, 1H), 8.41 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.73 – 7.65 (m, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.60 – 7.54 (m, 1H), 7.53 – 7.49 (m, 2H), 7.35 (dd, *J* = 8.3, 1.5 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.87 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.32, 165.16, 164.09, 151.60, 149.19, 145.24, 142.78, 136.24, 134.05, 132.11, 130.44, 130.03, 129.13, 127.85, 127.62, 124.37, 120.36, 117.12, 111.75, 111.06, 109.34, 105.12, 55.92, 55.87, 55.77 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>5</sub>: C, 66.45; H, 4.91; N, 3.10. Gefunden: C, 66.29; H, 5.11; N, 3.20.

**132 (E)-3-Brom-N-(2-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)benzamid (STK 214)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 78,5 mg; 0,25 mmol) und 3-Brombenzoylchlorid (66 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 49 %).

Molekulargewicht: 496,36 g/mol

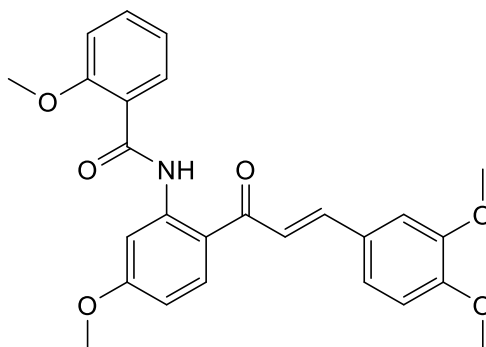
Schmelzpunkt: 187-188 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.24 (s, 1H), 8.44 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.38 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.11 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.01 – 7.97 (m, 1H), 7.90 – 7.84 (m, 2H), 7.77 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.86 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.65, 164.18, 163.83, 151.61, 149.19, 145.27, 143.24, 136.83, 135.16, 134.22, 131.40, 130.17, 127.65, 126.06, 124.36, 122.47, 120.40, 117.12, 111.75, 111.15, 109.24, 105.23, 55.93, 55.85, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>BrNO<sub>5</sub>: C, 60.50; H, 4.47; N, 2.82. Gefunden: C, 60.78; H, 4.62; N, 2.84.



**133 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)-2-methoxybenzamid (STK 195)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 157 mg; 0,5 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (85 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

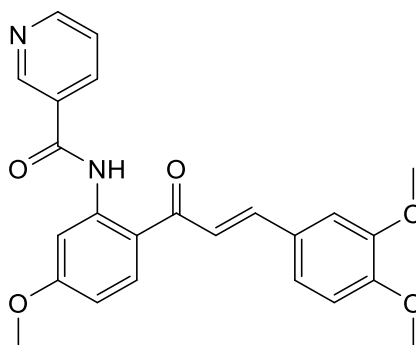
Molekulargewicht: 447,49 g/mol

Schmelzpunkt: 142-143 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.75 (s, 1H), 8.51 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.95 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.60 – 7.55 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.37 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.25 (dd, 1H), 7.13 – 7.08 (m, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 190.81, 164.30, 163.51, 157.24, 151.43, 149.19, 144.49, 142.28, 133.67, 133.52, 131.40, 127.69, 123.98, 122.53, 121.39, 120.90, 118.46, 112.38, 111.75, 111.10, 108.59, 106.36, 55.99, 55.91, 55.76, 55.70 ppm.

EA berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>: C, 69.79; H, 5.63; N, 3.13. Gefunden: C, 69.86; H, 5.68; N, 3.16.

**134 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)nicotinamid (STK 192)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 78,5 mg; 0,25 mmol) und Nicotinoylchlorid Hydrochlorid (35,5 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 27 %).

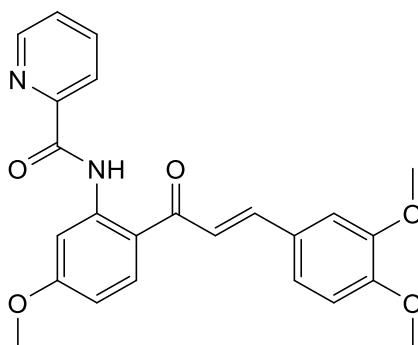
Molekulargewicht: 418,45 g/mol

Schmelzpunkt: 171-172 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.33 (s, 1H), 9.17 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.82 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.45 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.39 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.35 – 8.30 (m, 1H), 7.88 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.68 – 7.62 (m, 1H), 7.54 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.86 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.66, 164.21, 163.89, 152.93, 151.65, 149.21, 148.39, 145.38, 143.25, 135.02, 134.20, 130.23, 127.66, 124.41, 124.18, 120.30, 117.06, 111.78, 111.16, 109.30, 105.20, 55.94, 55.85, 55.79 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 68.89; H, 5.30; N, 6.69. Gefunden: C, 68.84; H, 5.57; N, 6.57.

**135 (*E*)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)picolinamid (STK 193)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 157 mg; 0,5 mmol) und Picolinoylchlorid (71 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 22 %).

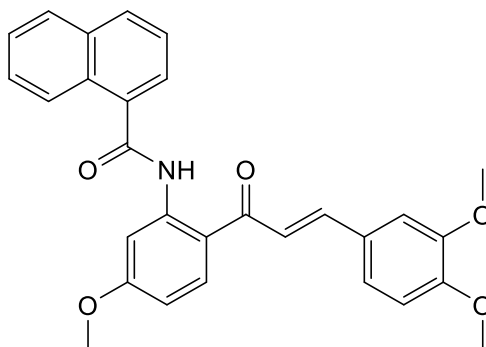
Molekulargewicht: 418,45 g/mol

Schmelzpunkt: 150-152 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.76 (s, 1H), 8.82 – 8.78 (m, 1H), 8.58 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.41 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.20 (dt, *J* = 7.8, 1.1 Hz, 1H), 8.08 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.72 – 7.68 (m, 1H), 7.55 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.86 (dd, *J* = 8.9, 2.7 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 190.68, 163.76, 163.51, 151.42, 149.74, 149.15, 148.93, 144.70, 142.34, 138.28, 133.94, 127.72, 127.33, 124.10, 122.64, 120.76, 117.71, 111.73, 111.07, 108.85, 105.36, 55.88, 55.72, 55.70 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 68.89; H, 5.30; N, 6.69. Gefunden: C, 68.84; H, 5.60; N, 6.46.

**136 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)-1-naphthamid (STK 196)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 157 mg; 0,5 mmol) und 1-Naphthoylchlorid (95 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 32 %).

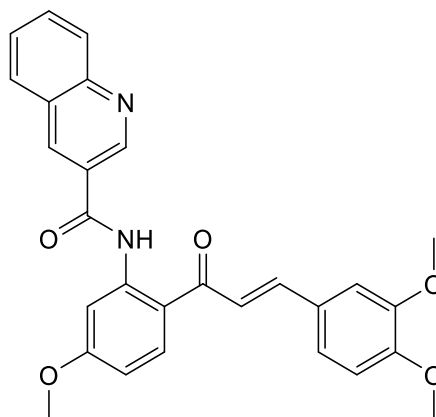
Molekulargewicht: 467,52 g/mol

Schmelzpunkt: 175-176 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.89 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.44 – 8.37 (m, 2H), 8.15 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.09 – 8.02 (m, 1H), 7.92 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.69 – 7.59 (m, 4H), 7.50 (s, 1H), 7.34 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.38, 167.52, 164.12, 151.55, 149.18, 145.08, 143.30, 134.20, 134.02, 133.56, 131.38, 129.75, 128.63, 127.65, 127.46, 126.75, 125.69, 125.30, 125.21, 124.28, 120.48, 117.25, 111.74, 111.07, 109.19, 105.17, 55.91, 55.86, 55.76 ppm.

EA berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>: C, 74.50; H, 5.39; N, 3.00. Gefunden: C, 74.66; H, 5.57; N, 3.13.

**137 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)chinoline-3-carboxamid (STK 197)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 78,5 mg; 0,25 mmol) und Chinolon-3-carbonylchlorid (48 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %).

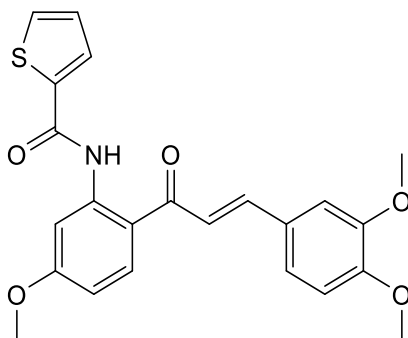
Molekulargewicht: 468,51 g/mol

Schmelzpunkt: 229-230 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.18 (s, 1H), 9.43 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.93 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.39 (dd, *J* = 5.7, 4.8 Hz, 2H), 8.20 – 8.16 (m, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.94 – 7.89 (m, 1H), 7.80 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H), 7.76 – 7.72 (m, 1H), 7.49 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.89 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.83 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 191.48, 163.87, 163.70, 151.57, 149.21, 148.71, 148.02, 144.70, 142.70, 135.53, 133.61, 131.46, 129.11, 128.69, 127.60, 127.46, 127.24, 126.40, 123.63, 120.68, 117.52, 112.08, 111.78, 109.07, 105.60, 55.89, 55.69, 55.53 ppm.

EA berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: C, 71.78; H, 5.16; N, 5.98. Gefunden: C, 71.47; H, 5.37; N, 6.03.

### 138 (*E*)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)thiophen-2-carboxamid (STK 198)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 157 mg; 0,5 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (73 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 51 %).

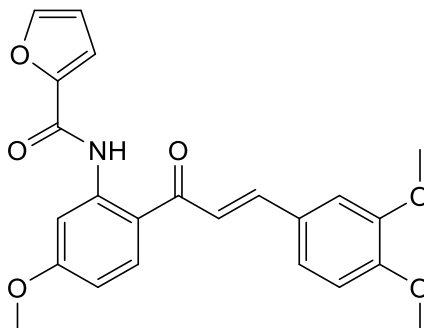
Molekulargewicht: 423,48 g/mol

Schmelzpunkt: 166-168 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.32 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.95 (dd, *J* = 5.0, 1.1 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.84 (dd, *J* = 3.8, 1.1 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.30 (dd, *J* = 4.9, 3.8 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 191.61, 164.22, 160.07, 151.62, 149.20, 145.24, 143.46, 139.79, 134.23, 132.90, 129.02, 128.65, 127.66, 124.39, 120.29, 116.48, 111.76, 111.13, 108.98, 104.73, 55.93, 55.78 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>S: C, 65.23; H, 5.00; N, 3.31. Gefunden: C, 65.16; H, 5.17; N, 3.29.

**139 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)furan-2-carboxamid (STK 215)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 78 mg; 0,25 mmol) und Furan-2-carbonylchlorid (33 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 46 %).

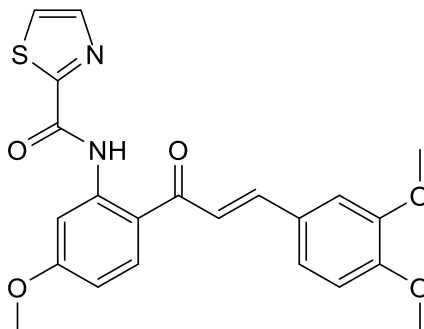
Molekulargewicht: 407,42 g/mol

Schmelzpunkt: 167-168 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.24 (s, 1H), 8.44 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.40 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.03 (dd, *J* = 1.7, 0.8 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 3.5, 0.7 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.83 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 3.5, 1.7 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.31, 164.07, 156.37, 151.59, 149.21, 147.66, 146.47, 145.12, 143.07, 134.18, 127.70, 124.37, 120.32, 116.61, 115.84, 112.92, 111.76, 111.13, 108.83, 104.99, 55.94, 55.77 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub>: C, 67.81; H, 5.20; N, 3.44. Gefunden: C, 67.76; H, 5.27; N, 3.51.

**140 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)thiazol-2-carboxamid (STK 216)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**87**; 78 mg; 0,25 mmol) und Thiazol-2-carbonylchlorid (37 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 72 %).

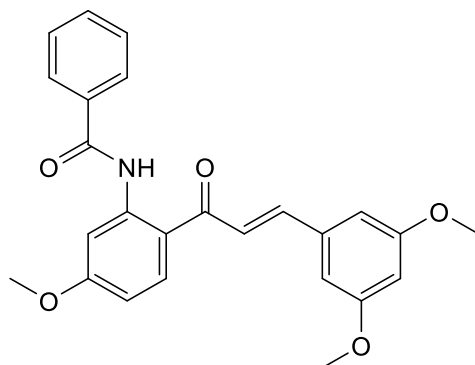
Molekulargewicht: 424,47g/mol

Schmelzpunkt: 191-192 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.63 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.42 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.17 (q, *J* = 3.1 Hz, 2H), 7.88 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 190.79, 163.76, 163.46, 158.19, 151.42, 149.04, 145.04, 144.38, 141.93, 133.97, 127.56, 127.17, 124.22, 120.19, 117.14, 111.61, 110.96, 109.09, 105.25, 55.78, 55.66, 55.62 ppm.

EA berechnet für C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: C, 62.25; H, 4.75; N, 6.60. Gefunden: C, 62.26; H, 4.80; N, 6.30.

**141 (*E*)-N-(2-(3-(3,5-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)benzamid (STK 201)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**88**; 78 mg; 0,25 mmol) und Benzoylchlorid (35 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 41 %).

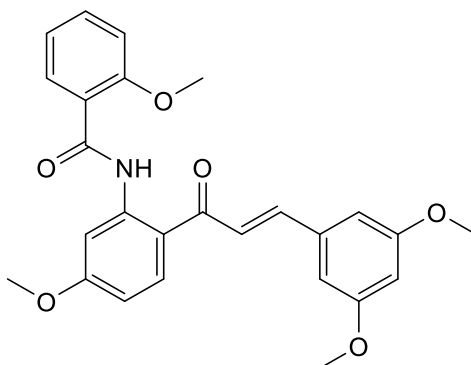
Molekulargewicht: 417,46 g/mol

Schmelzpunkt: 158-160 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 13.20 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.47 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 8.03 – 7.99 (m, 3H), 7.74 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.68 – 7.65 (m, 1H), 7.64 – 7.59 (m, 2H), 7.08 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.84 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 6.58 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.71, 165.34, 164.49, 160.86 (2C), 144.67, 143.80, 136.72, 134.54, 134.51, 132.47, 129.18 (2C), 127.20 (2C), 123.41, 116.57, 109.00, 107.05 (2C), 104.88, 103.06, 55.83, 55.58 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 71.93; H, 5.55; N, 3.36. Gefunden: C, 71.50; H, 5.78; N, 3.32.

**142 (E)-N-(2-(3-(3,5-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)-2-methoxybenzamid (STK 202)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**88**; 78 mg; 0,25 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (43 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %).

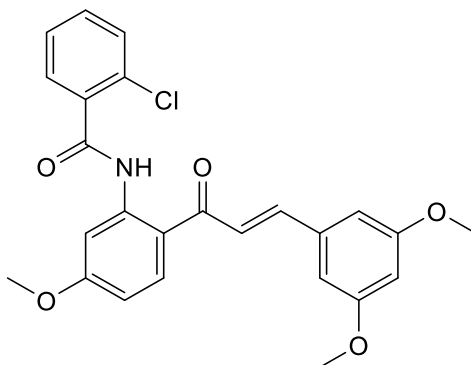
Molekulargewicht: 447,49 g/mol

Schmelzpunkt: 132-133 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.73 (s, 1H), 8.52 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.95 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.60 – 7.55 (m, *J* = 8.4, 7.3, 1.8 Hz, 1H), 7.25 (dd, *J* = 8.4, 0.8 Hz, 1H), 7.13 – 7.08 (m, 1H), 7.04 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.82 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 1H), 6.57 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 190.84, 164.33, 163.76, 160.86 (2C), 157.24, 143.98, 142.43, 136.80, 133.88, 133.71, 131.43, 124.35, 122.44, 120.90, 118.15, 112.38, 108.62, 106.85 (2C), 106.36, 103.00, 56.00, 55.73, 55.59 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>: C, 69.79; H, 5.63; N, 3.13. Gefunden: C, 69.70; H, 5.79; N, 3.19.

**143 (E)-2-Chlor-N-(2-(3-(3,5-dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)-benzamid (STK 203)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**88**; 78 mg; 0,25 mmol) und 2-Chlorbenzoylchlorid (44 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 34 %).

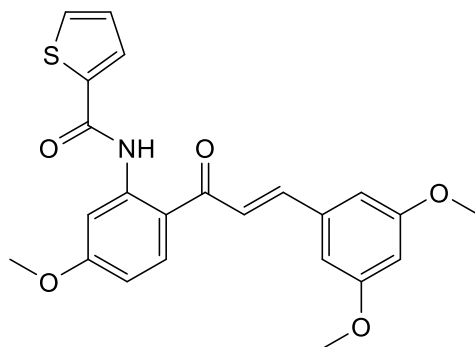
Molekulargewicht: 451,9 g/mol

Schmelzpunkt: 185-187 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.59 (s, 1H), 8.42 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.71 (dd, *J* = 7.6, 1.7 Hz, 1H), 7.65 – 7.60 (m, 2H), 7.59 – 7.54 (m, 1H), 7.53 – 7.49 (m, 1H), 7.03 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.87 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 6.57 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.79 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 191.41, 165.19, 164.32, 160.86 (2C), 144.70, 142.81, 136.68, 136.18, 134.34, 132.14, 130.44, 130.04, 129.14, 127.84, 123.44, 117.04, 109.39, 107.03 (2C), 105.20, 103.03, 55.90, 55.59 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>5</sub>: C, 66.45; H, 4.91; Cl, 7.84; N, 3.10. Gefunden: C, 66.13; H, 5.16; N, 3.05.

**144 (*E*)-N-(2-(3-(3,5-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)thiophen-2-carboxamid (STK 204)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**88**; 78 mg; 0,25 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (37 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 74 %).

Molekulargewicht: 423,48 g/mol

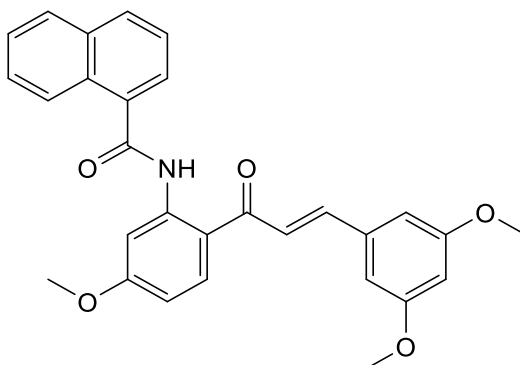
Schmelzpunkt: 166-168 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 13.19 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.95 (dd, *J* = 5.0, 1.1 Hz, 1H), 7.84 (dd, *J* = 3.8, 1.2 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.30 (dd, *J* = 5.0, 3.7 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.82 (dd, *J* = 9.0, 2.7 Hz, 1H), 6.58 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.80 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 191.69, 164.45, 160.87, 160.09 (2C), 144.69, 143.53, 139.70, 136.70, 134.54, 132.95, 129.07, 128.65, 123.36, 116.36, 109.01, 107.06 (2C), 104.77, 103.07, 55.82 (2C), 55.59 ppm.

EA berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>S: C, 65.23; H, 5.00; N, 3.31. Gefunden: C, 64.96; H, 5.18; N, 3.33.



**145 (E)-N-(2-(3-(3,5-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl)-1-naphthamid (STK 205)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**88**; 78 mg; 0,25 mmol) und 1-Naphthoylchlorid (48 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 53 %).

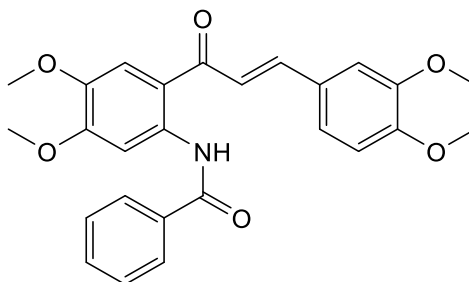
Molekulargewicht: 467,52 g/mol

Schmelzpunkt: 162-163 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.78 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.43 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.42 – 8.37 (m, 1H), 8.15 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.07 – 8.03 (m, 1H), 7.98 – 7.91 (m, 2H), 7.69 – 7.59 (m, 4H), 7.03 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 6.88 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 6.59 – 6.54 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.78 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 191.45, 167.53, 164.32, 160.84 (2C), 144.54, 143.33, 136.70, 134.29, 134.12, 133.55, 131.40, 129.74, 128.62, 127.46, 126.75, 125.70, 125.28, 125.19, 123.54, 117.16, 109.23, 106.98 (2C), 105.23, 103.00, 55.89, 55.57 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>: C, 74.50; H, 5.39; N, 3.00. Gefunden: C, 74.36; H, 5.51; N, 3.00.

**146 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-4,5-dimethoxyphenyl)-benzamid (STK 218)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4,5-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**89**; 86 mg; 0,25 mmol) und Benzoylchlorid (35 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 79 %).

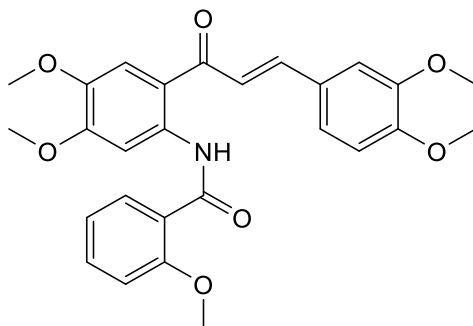
Molekulargewicht: 447,49 g/mol

Schmelzpunkt: 190-191 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.99 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.01 – 8.00 (m, 1H), 8.00 – 7.98 (m, 1H), 7.83 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.66 – 7.62 (m, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 2H), 7.51 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 191.54, 165.00, 154.08, 151.57, 149.12, 145.19, 144.10, 137.15, 134.67, 132.27, 129.11 (2C), 127.68, 127.15 (2C), 123.97, 120.91, 116.73, 114.63, 111.81, 111.79, 103.97, 56.62, 55.93, 55.87, 55.78 ppm.

EA berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>: C, 69.79; H, 5.63; N, 3.13. Gefunden: C, 69.57; H, 5.66; N, 3.18.

**147 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-4,5-dimethoxyphenyl)-2-methoxybenzamid (STK 219)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4,5-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**89**; 86 mg; 0,25 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (43 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 89 %).

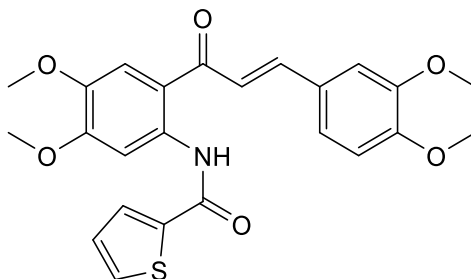
Molekulargewicht: 477,51 g/mol

Schmelzpunkt: 184-185 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 12.52 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.97 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.59 – 7.54 (m, 1H), 7.49 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.24 (dd, *J* = 8.5, 0.7 Hz, 1H), 7.13 – 7.07 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 190.87, 163.81, 157.26, 153.04, 151.44, 149.13, 144.65, 143.86, 135.54, 133.54, 131.36, 127.69, 123.71, 122.43, 121.85, 120.88, 118.23, 114.19, 112.35, 111.81, 111.68, 105.22, 56.46, 55.99, 55.92, 55.77 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>7</sub>: C, 67.91; H, 5.70; N, 2.93. Gefunden: C, 67.54; H, 5.75; N, 3.09.

**148 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-4,5-dimethoxyphenyl)-thiophen-2-carboxamid (STK 220)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4,5-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**89**; 86 mg; 0,25 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (37 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassoranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 57 %).

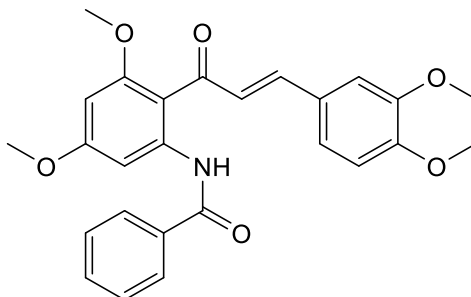
Molekulargewicht: 453,51 g/mol

Schmelzpunkt: 213-214 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 12.93 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.92 (dd, *J* = 5.0, 1.1 Hz, 1H), 7.84 – 7.80 (m, 2H), 7.78 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.50 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.28 (dd, *J* = 5.0, 3.7 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO) δ:** 191.50, 159.84, 154.03, 151.59, 149.12, 145.18, 144.21, 139.90, 136.66, 132.58, 128.83, 128.58, 127.65, 124.00, 120.93, 116.83, 114.54, 111.82, 111.73, 104.06, 56.62, 55.92, 55.88, 55.79 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub>S: C, 63.56; H, 5.11; N, 3.09. Gefunden: C, 63.23; H, 5.21; N, 3.33.

**149 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-3,5-dimethoxyphenyl)-benzamid (STK 223)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**90**; 69 mg; 0,2 mmol) und Benzoylchlorid (28 mg; 0,2 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 39 %).

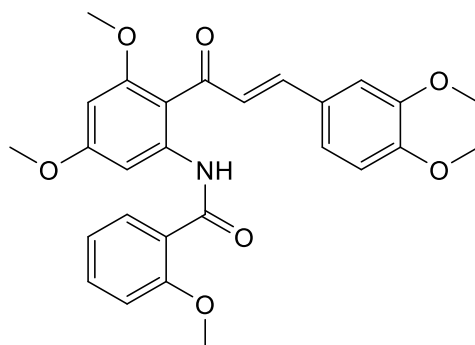
Molekulargewicht: 447,49 g/mol

Schmelzpunkt: 167-168 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 11.51 (s, 1H), 7.91 – 7.87 (m, 2H), 7.66 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.63 – 7.59 (m, 1H), 7.58 – 7.52 (m, 3H), 7.33 – 7.28 (m, 2H), 7.26 (dd, *J* = 8.5, 1.9 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.56 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.79 ppm (d, *J* = 1.1 Hz, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 192.48, 165.05, 163.40, 161.17, 151.17, 149.13, 142.03, 140.65, 134.50, 132.25, 129.01 (2C), 127.76, 127.19 (2C), 126.66, 122.94, 112.21, 111.92, 111.00, 99.56, 95.06, 56.39, 55.77, 55.75, 55.71 ppm.

EA berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>: C, 69.79; H, 5.63; N, 3.13. Gefunden: C, 69.89; H, 5.99; N, 3.45.

**150 (*E*)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-3,5-dimethoxyphenyl)-2-methoxybenzamid (STK 224)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-1-(2-Amino-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**90**; 69 mg; 0,2 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (34 mg; 0,2 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 46 %).

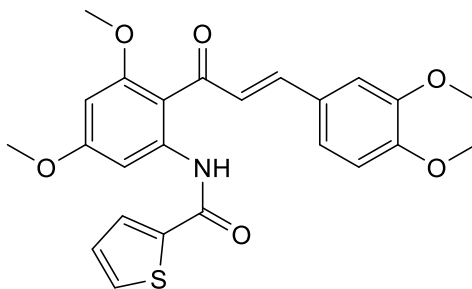
Molekulargewicht: 477,51 g/mol

Schmelzpunkt: 138-140 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.99 (s, 1H), 7.99 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.58 – 7.53 (m, 1H), 7.46 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.29 – 7.25 (m, 1H), 7.22 – 7.16 (m, 2H), 7.09 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.79 ppm (d, *J* = 1.4 Hz, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 193.17, 163.20, 162.37, 159.63, 157.24, 151.31, 149.16, 142.96, 138.81, 133.89, 131.58, 127.48, 126.55, 123.17, 121.33, 121.09, 112.82, 112.47, 111.87, 111.09, 99.68, 94.64, 56.26, 56.12, 55.76, 55.74, 55.63 ppm.

EA berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>7</sub>: C, 67.91; H, 5.70; N, 2.93. Gefunden: C, 67.65; H, 5.81; N, 3.02.

**151 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-3,5-dimethoxyphenyl)-thiophen-2-carboxamid (STK 225)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**90**; 69 mg; 0,2 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (30 mg; 0,2 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 66 %).

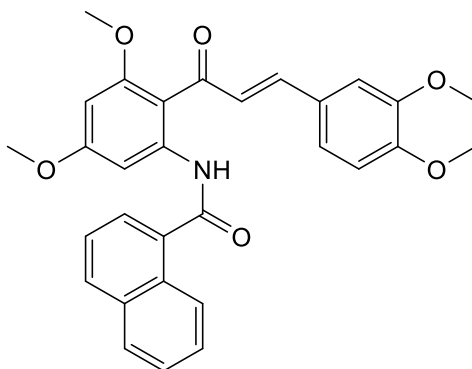
Molekulargewicht: 453,51 g/mol

Schmelzpunkt: 187-188 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.47 (s, 1H), 7.88 (dd, *J* = 5.0, 1.1 Hz, 1H), 7.76 (dd, *J* = 3.8, 1.1 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.27 – 7.22 (m, 2H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.55 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.80 ppm (d, *J* = 2.2 Hz, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.38, 163.29, 161.09, 159.81, 151.17, 149.13, 142.15, 140.17, 139.59, 132.52, 128.98, 128.48, 127.73, 126.60, 122.96, 112.44, 111.92, 110.96, 99.77, 95.18, 56.38, 55.76, 55.75, 55.71 ppm.

EA berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub>S: C, 63.56; H, 5.11; N, 3.09. Gefunden: C, 63.49; H, 5.16; N, 3.37.

**152 (E)-N-(2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-3,5-dimethoxyphenyl)-1-naphthamid (STK 226)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (E)-1-(2-Amino-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**90**; 69 mg; 0,2 mmol) und 1-Naphthoylchlorid (38 mg; 0,2 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 47 %).

Molekulargewicht: 497,55 g/mol

Schmelzpunkt: 177-178 °C

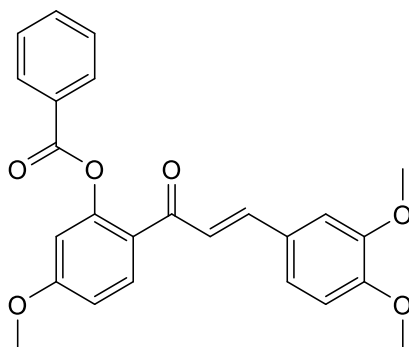
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 10.89 (s, 1H), 8.24 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.73 (dd, *J* = 7.1, 1.2 Hz, 1H), 7.59 – 7.54 (m, 2H), 7.52 – 7.47 (m, 1H), 7.42 (d, *J* = 15.8 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.23 – 7.17 (m, 2H), 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.78 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 192.37, 167.28, 162.61, 160.22, 151.13, 149.13, 142.41, 139.27, 134.22, 133.37, 130.82, 129.77, 128.44, 127.70, 127.10, 126.67, 126.56, 125.55, 125.34, 125.14, 122.97, 114.59, 111.89, 110.92, 101.08, 95.70, 56.36, 55.78, 55.74 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>30</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub>: C, 72.42; H, 5.47; N, 2.82. Gefunden: C, 72.23; H, 5.56; N, 2.86.

### 7.1.3.9 Darstellung der Acryloylphenylcarboxylate

Die unterschiedlich substituierten 2'-Hydroxy-4'-methoxychalkone und das jeweilige Säurechlorid wurden in 20 ml THF gelöst und mit einem Überschuss an Triethylamin versetzt. Anschließend rührte das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur. Nach erfolgter Umsetzung wurde das ausgefallene Triethylammoniumchlorid abfiltriert und mit THF gewaschen. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer eingengt und der Rückstand mit wenig Ethanol aufgenommen. Letztlich erfolgten die Umkristallisation aus Ethanol und die Trocknung des Produktes unter Vakuum bei 50 °C.

#### 153 (*E*)-2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl benzoat (STK 208)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**91**; 79 mg; 0,25 mmol) und Benzoylchlorid (35 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 60 %).

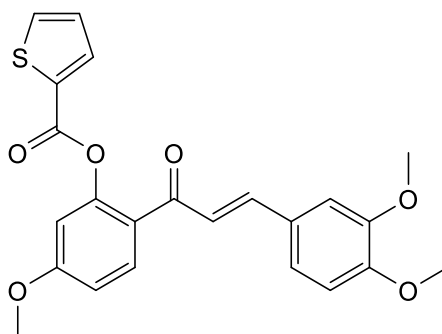
Molekulargewicht: 418,44 g/mol

Schmelzpunkt: 128-130 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 8.11 – 8.08 (m, 2H), 7.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.71 – 7.67 (m, 1H), 7.55 – 7.51 (m, 2H), 7.48 – 7.38 (m, 2H), 7.30 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.19 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.05 – 7.01 (m, 2H), 6.93 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.76 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 188.20, 164.55, 163.07, 151.32, 150.98, 149.05, 144.12, 134.03, 132.07, 130.00 (2C), 129.03, 128.92 (2C), 127.36, 124.69, 123.72, 122.53, 112.18, 111.66, 110.64, 109.52, 56.10, 55.75, 55.72 ppm.

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>: C, 71.76; H, 5.30. Gefunden: C, 71.44; H, 5.45.

**154 (*E*)-2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl thiophen-2-carboxylat (STK 209)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**91**; 79 mg; 0,25 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (37 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 57 %).

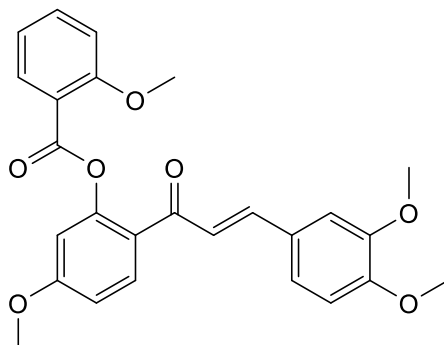
Molekulargewicht: 424,47 g/mol

Schmelzpunkt: 111-112 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 8.02 (dd, *J* = 5.0, 1.3 Hz, 1H), 7.98 (dd, *J* = 3.8, 1.3 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 5.0, 3.8 Hz, 1H), 7.20 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.05 – 7.01 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.77 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 188.12, 163.04, 159.90, 151.33, 150.40, 149.04, 144.23, 135.32, 135.30, 132.03, 131.92, 128.64, 127.36, 124.69, 123.73, 122.46, 112.36, 111.67, 110.62, 109.46, 56.10, 55.75, 55.71 ppm.

EA berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>S: C, 65.08; H, 4.75. Gefunden: C, 64.93; H, 4.88.

**155 (*E*)-2-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl 2-methoxybenzoat (STK 210)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**91**; 79 mg; 0,25 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (43 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 53 %).

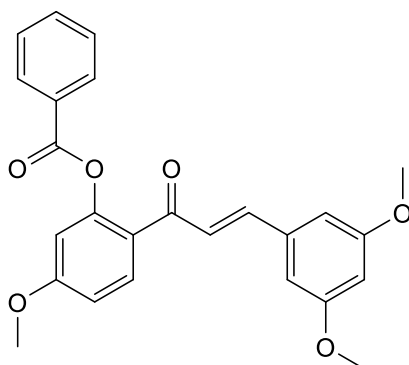
Molekulargewicht: 448,47 g/mol

Schmelzpunkt: 114-115 °C

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 7.97 (dd, *J* = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.60 – 7.56 (m, 1H), 7.47 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.20 (dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 8.5, 0.7 Hz, 1H), 7.03 – 6.99 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.73 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 188.48, 163.08, 163.02, 159.43, 151.30, 150.89, 149.05, 144.09, 134.81, 132.04, 131.95, 127.42, 125.02, 123.58, 122.75, 120.12, 118.22, 112.83, 112.06, 111.69, 110.70, 109.41, 56.09, 55.98, 55.74, 55.71 ppm.

EA berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>: C, 69.63; H, 5.39. Gefunden: C, 69.23; H, 5.56.

**156 (*E*)-2-(3-(3,5-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl benzoat (STK 211)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**92**; 79 mg; 0,25 mmol) und Benzoylchlorid (35 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 70 %).



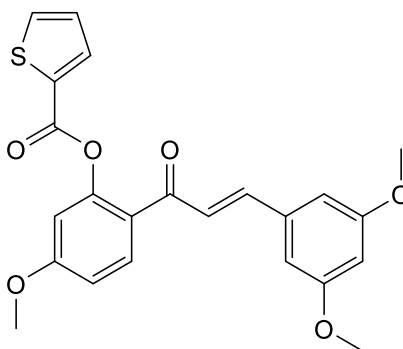
Molekulargewicht: 418,44 g/mol

Schmelzpunkt: 123-124 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 8.10 – 8.07 (m, 2H), 8.00 (dd, *J* = 8.3, 0.6 Hz, 1H), 7.71 – 7.66 (m, 1H), 7.54 (dd, *J* = 5.9, 4.5 Hz, 1H), 7.53 – 7.50 (m, 2H), 7.42 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.06 – 7.02 (m, 2H), 6.85 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 6.51 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.73 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 188.18, 164.55, 163.34, 160.74 (2C), 151.20, 143.66, 136.51, 134.03, 132.33, 130.01 (2C), 128.99, 128.91 (2C), 125.28, 124.27, 112.21, 109.62, 106.54 (2C), 102.99, 56.14, 55.50 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>: C, 71.76; H, 5.30. Gefunden: C, 71.71; H, 5.47.

**157 (*E*)-2-(3-(3,5-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenylthiophen-2-carboxylat (STK 212)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**92**; 79 mg; 0,25 mmol) und Thiophen-2-carbonylchlorid (37 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 62 %).

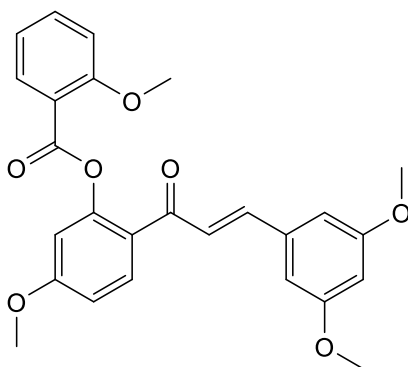
Molekulargewicht: 424,47 g/mol

Schmelzpunkt: 103-104 °C

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 8.02 (dd, *J* = 5.0, 1.3 Hz, 1H), 8.00 – 7.96 (m, 2H), 7.52 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 5.0, 3.8 Hz, 1H), 7.05 – 7.02 (m, 2H), 6.86 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 6.52 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.75 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 188.11, 163.30, 160.72 (2C), 159.89, 150.60, 143.77, 136.50, 135.33, 135.29, 132.27, 131.87, 128.61, 125.18, 124.25, 112.37, 109.55, 106.51 (2C), 103.01, 56.13, 55.49 ppm (2C).

EA berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>S: C, 65.08; H, 4.75. Gefunden: C, 65.11; H, 4.89.

**158 (*E*)-2-(3-(3,5-Dimethoxyphenyl)acryloyl)-5-methoxyphenyl 2-methoxybenzoat (STK 213)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus (*E*)-3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**92**; 79 mg; 0,25 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (43 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 66 %).

Molekulargewicht: 448,47 g/mol

Schmelzpunkt: 104-105 °C

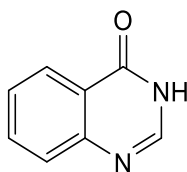
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 7.97 (dd, *J* = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.60 – 7.56 (m, 1H), 7.50 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.03 – 6.99 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.52 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.72 ppm (s, 6H). **<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 188.45, 163.31, 163.11, 160.76 (2C), 159.45, 151.11, 143.60, 136.57, 134.84, 132.19, 132.08, 125.48, 124.62, 120.10, 118.12, 112.81, 112.13, 109.47, 106.51 (2C), 102.92, 56.13, 55.97, 55.49 ppm.

EA berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>: C, 69.63; H, 5.39. Gefunden: C, 69.44; H, 5.61.

### 7.1.3.10 Darstellung der Chinazolin-4(3*H*)-one

Zwei verschiedene Syntheserouten wurden zur Darstellung der Chinazolin-4(3*H*)-one verwendet, abhängig von der Ab- bzw. Anwesenheit eines Phenylringes in Position 2 des Chinazolingerüsts. Für Verbindungen ohne Substitution in Position 2 galt Methode A und für die substituierten Derivate Methode B.

**Methode A:** Zu einer Menge von 1 äquivalent Anthranilsäure oder 2-Amino-4,5-dimethoxybenzoesäure wurden 4 äquivalente Formamid hinzugegeben und die Mischung für 8-10 h bei 150 °C erhitzt. Durch die vierfache Menge an Formamid war der Zusatz eines Lösungsmittels unnötig. Anschließend erfolgte nach Abkühlung auf Raumtemperatur die Verdünnung mit ca. 50 ml Wasser. Daraus resultierte ein Niederschlag des Produktes, welcher abgesaugt und mit ausreichend Wasser gewaschen wurde.

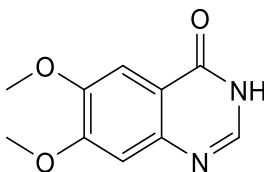
**159 Chinazolin-4(3H)-on (STK-A2)**

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus Anthranilsäure (4,5 g; 0,033 mol) und Formamid (6 g; 0,13 mol) synthetisiert und in Form weißer Kristalle isoliert (Ausbeute: 73 %).

Summenformel:  $C_8H_6N_2O$

Molekulargewicht: 146,15 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.20 (s, 1H), 8.13 – 8.10 (m, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.82 – 7.78 (m, 1H), 7.65 (dd,  $J = 8.2, 0.6$  Hz, 1H), 7.53 – 7.49 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 160.88, 148.88, 145.52, 134.43, 127.32, 126.86, 125.96, 122.77 ppm.

**160 6,7-Dimethoxychinazolin-4(3H)-on (STK-A1)**

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Amino-4,5-Dimethoxybenzoesäure (1,0 g; 5 mmol) und Formamid (0,92 g; 20 mmol) synthetisiert und als brauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 48 %).

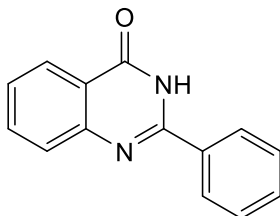
Summenformel:  $C_{10}H_{10}N_2O_3$

Molekulargewicht: 206,2 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.02 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.86 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 160.13, 154.58, 148.68, 144.99, 143.92, 115.73, 108.15, 105.08, 56.03, 55.81 ppm.

**Methode B:** Zu einer Lösung aus 20 mmol Anthranilamid und 20 mmol substituierten Benzaldehyd in DMF (20 ml) wurden 25 mmol Iod und 20 mmol wasserfreies Kaliumcarbonat hinzugefügt. Die Mischung wurde anschließend für 4-5 h bei 90 °C. Nach vollständiger Umsetzung der Reaktion erfolgte die Fällung des Produktes durch das Zufügen von Eiswasser. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit 100 ml 20 %-iger Natriumthiosulfatlösung, zur Entfernung

überschüssigen Iods, und reichlich Wasser gewaschen. Gegebenenfalls war eine Umkristallisation aus Ethanol notwendig.

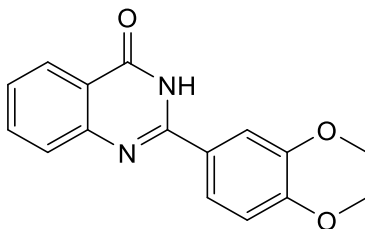
**161 2-Phenylchinazolin-4(3H)-on (STK-A12)**

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus Anthranilamid (2,72 g; 20 mmol) und Benzaldehyd (2,12 g; 20 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 71 %).

Summenformel:  $C_{14}H_{10}N_2O$

Molekulargewicht: 222,24 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.41 (s, 1H), 8.19 – 8.17 (m, 2H), 8.15 (dd,  $J$  = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.85 – 7.80 (m, 1H), 7.75 – 7.71 (m, 1H), 7.58 – 7.56 (m, 1H), 7.56 – 7.52 (m, 2H), 7.51 – 7.49 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 162.55, 152.64, 148.85, 134.64, 133.00, 131.46, 128.70 (2C), 127.89 (2C), 127.52, 126.63, 125.98, 121.13 ppm.

**162 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4(3H)-on (STK-A9)**

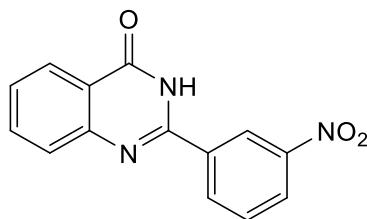
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus Anthranilamid (2,72 g; 20 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (3,32 g; 20 mmol) synthetisiert und als hellbrauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 44 %).

Summenformel:  $C_{16}H_{14}N_2O_3$

Molekulargewicht: 282,1 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.32 (s, 1H), 8.12 (dd,  $J$  = 8.1, 1.3 Hz, 1H), 7.87 (dd,  $J$  = 8.5, 2.2 Hz, 1H), 7.81 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 7.80 – 7.77 (m, 1H), 7.70 (dd,  $J$  = 8.1, 0.5 Hz, 1H), 7.49 – 7.44 (m, 1H), 7.10 (dd,  $J$  = 8.2, 4.0 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.84 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 162.67, 152.17, 151.72, 149.01, 148.70, 134.58, 127.32, 126.17, 125.96, 125.05, 121.29, 120.83, 111.55, 110.92, 55.84, 55.83 ppm.

### 163 2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4(3H)-on (STK-A16)



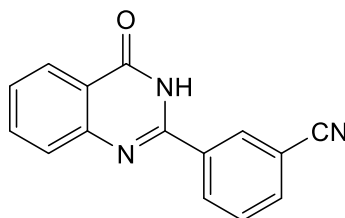
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus Anthranilamid (2,72 g; 20 mmol) und 3-Nitrobenzaldehyd (3,02 g; 20 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 46 %).

Summenformel:  $C_{14}H_9N_3O_3$

Molekulargewicht: 267,24 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.85 (s, 1H), 9.02 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 8.61 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 8.42 (dd,  $J = 8.2, 1.6$  Hz, 1H), 8.17 (dd,  $J = 7.9, 1.4$  Hz, 1H), 7.89 – 7.83 (m, 2H), 7.80 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.59 – 7.54 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 150.69, 148.14, 134.89, 134.51, 134.14, 130.44, 127.78, 127.30, 126.05, 125.93, 122.84, 121.38 ppm. Die Signale für zwei quartäre C-Atome fehlen.

### 164 3-(4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)benzonitril (STK-A18)

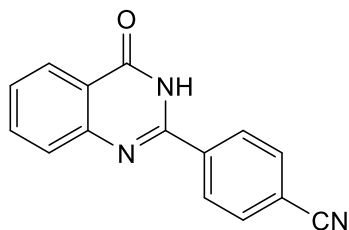


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus Anthranilamid (1,36 g; 10 mmol) und 3-Cyanobenzaldehyd (1,31 g; 10 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 21 %).

Summenformel:  $C_{15}H_9N_3O$

Molekulargewicht: 247,26 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.26 (s, 1H), 8.59 (t,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 8.52 – 8.48 (m, 1H), 8.16 – 8.12 (m, 1H), 8.05 – 8.00 (m, 1H), 7.84 – 7.80 (m, 1H), 7.75 (dd,  $J = 11.9, 4.2$  Hz, 2H), 7.54 – 7.50 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 163.17, 151.69, 148.80, 134.85, 134.54, 134.49, 132.57, 131.59, 130.00, 127.58, 126.82, 126.03, 121.40, 118.48, 111.85 ppm.

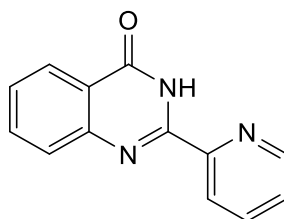
**165 4-(4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)benzonitril (STK-A22)**

Herstellung: Die Verbindung wurde aus Anthranilamid (1,36 g; 10 mmol) und 4-Cyanobenzaldehyd (1,31 g; 10 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 59 %).

Summenformel:  $C_{15}H_9N_3O$

Molekulargewicht: 247,26 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 12.04 (s, 1H), 8.37 – 8.32 (m, 2H), 8.15 (dd,  $J$  = 7.9, 1.2 Hz, 1H), 8.02 – 7.98 (m, 2H), 7.85 – 7.80 (m, 1H), 7.74 (dd,  $J$  = 8.1, 0.6 Hz, 1H), 7.54 – 7.50 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 163.13, 151.98, 148.78, 137.86, 134.50, 132.58 (2C), 128.75 (2C), 127.67, 126.96, 126.04, 121.45, 118.56, 113.48 ppm.

**166 2-(Pyridin-2-yl)chinazolin-4(3H)-on (STK-A25)**

Herstellung: Die Verbindung wurde aus Anthranilamid (1,36 g; 10 mmol) und Pyridin-2-carboxaldehyd (1,07 g; 10 mmol) synthetisiert und als brauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 42 %).

Summenformel:  $C_{13}H_9N_3O$

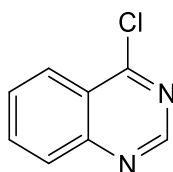
Molekulargewicht: 223,23 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.75 (s, 1H), 8.77 – 8.74 (m, 1H), 8.45 (dd,  $J$  = 7.9, 0.8 Hz, 1H), 8.20 – 8.17 (m, 1H), 8.09 – 8.04 (m, 1H), 7.89 – 7.84 (m, 1H), 7.79 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.67 – 7.63 (m, 1H), 7.59 – 7.54 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 160.87, 150.05, 149.11, 148.81, 148.58, 138.12, 134.83, 127.85, 127.40, 126.70, 126.23, 122.28, 122.16 ppm.

### 7.1.3.11 Darstellung der 4-Chlorchinazoline

Das ausgewählte Chinazolin-4(3*H*)-on wurde mit einem Überschuss an Phosphorylchlorid (ca. 10 ml) versetzt und für 9 h unter Reflux gerührt. Nach vollendeter Umsetzung wurde das Produkt durch Überführung in Eiswasser gefällt und die Lösung mit Ammoniumhydroxid neutralisiert. Das Produkt wurde abfiltriert und ohne weitere Aufarbeitungsschritte zur Folgestufe umgesetzt.

#### 167 4-Chlorchinazolin (STK-A4)



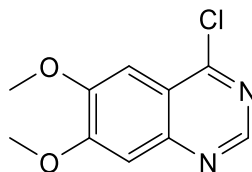
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus Chinazolin-4(3*H*)-on (**159**; 2,0 g; 13,7 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).

Summenformel:  $C_8H_5ClN_2$

Molekulargewicht: 164,01 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.62 (s, 1H), 8.17 – 8.12 (m, 1H), 7.91 – 7.86 (m, 1H), 7.78 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.63 – 7.57 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 160.01, 147.16, 144.23, 135.22, 127.85, 126.40, 124.24, 122.02 ppm.

#### 168 4-Chlor-6,7-dimethoxychinazolin (STK-A3)

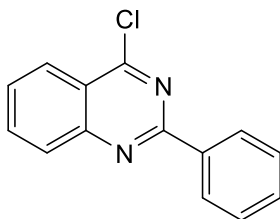


**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 6,7-Dimethoxychinazolin-4(3*H*)-on (**160**; 0,450 g; 2,2 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 64 %).

Summenformel:  $C_{10}H_9ClN_2O_2$

Molekulargewicht: 224,64 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.86 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.98 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 158.00, 156.88, 152.31, 151.53, 148.72, 118.72, 107.00, 102.37, 56.65, 56.30 ppm.

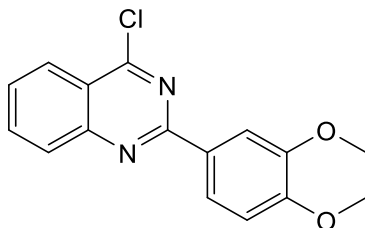
**169 4-Chlor-2-phenylchinazolin (STK-A13)**

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-Phenylchinazolin-4(3H)-on (**161**; 3,0 g; 13,5 mmol) synthetisiert und als brauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 68 %).

Summenformel:  $C_{14}H_9ClN_2$

Molekulargewicht: 240,69 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.19 – 8.12 (m, 3H), 7.90 – 7.85 (m, 2H), 7.67 – 7.62 (m, 1H), 7.61 – 7.55 ppm (m, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 161.80, 153.93, 146.17, 135.15, 132.29, 131.09, 128.78 (2C), 128.50 (2C), 127.31, 126.21, 125.70, 120.75 ppm.

**170 4-Chlor-2-(3,4-dimethoxyphenyl)chinazolin (STK-A10)**

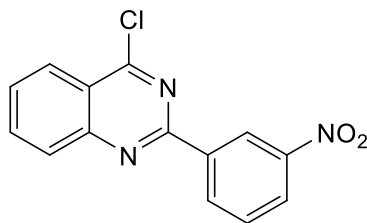
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4(3H)-on (**162**; 0,600 g; 2,1 mmol) synthetisiert und als brauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 91 %).

Summenformel:  $C_{16}H_{13}ClN_2O_2$

Molekulargewicht: 300,74 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.22 (dt,  $J = 8.3, 0.9$  Hz, 1H), 8.09 (dd,  $J = 8.5, 2.0$  Hz, 1H), 8.06 (d,  $J = 3.5$  Hz, 2H), 8.00 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.79 – 7.75 (m, 1H), 7.13 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.85 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 161.79, 158.95, 152.05, 151.43, 149.03, 135.91, 128.86, 128.60, 128.41, 125.74, 122.11, 121.55, 111.75, 110.97, 55.80, 55.71 ppm.



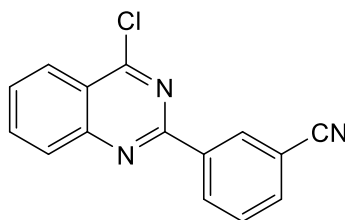
**171 4-Chlor-2-(3-nitrophenyl)chinazolin (STK-A17)**

**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4(3*H*)-on (**163**; 1,5 g; 5,6 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 69 %).

Summenformel:  $C_{14}H_8ClN_3O_2$

Molekulargewicht: 285,69 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 9.17 – 9.14 (m, 1H), 8.87 – 8.84 (m, 1H), 8.42 – 8.40 (m, 1H), 8.32 – 8.29 (m, 1H), 8.20 – 8.17 (m, 1H), 8.17 – 8.13 (m, 1H), 7.91 – 7.87 ppm (m, 2H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 162.52, 156.90, 151.11, 148.52, 137.76, 136.42, 134.24, 130.86, 130.17, 128.83, 125.93, 125.87, 122.52, 122.29 ppm.

**172 3-(4-Chlorchinazolin-2-yl)benzonitril (STK-A19)**

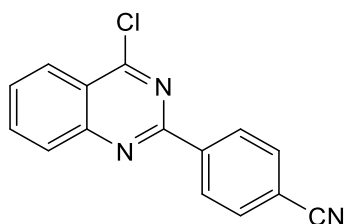
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)benzonitril (**164**; 0,5 g; 2 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 91 %).

Summenformel:  $C_{15}H_8ClN_3$

Molekulargewicht: 265,7 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.78 – 8.75 (m, 2H), 8.34 – 8.30 (m, 1H), 8.18 – 8.14 (m, 2H), 8.03 – 8.00 (m, 1H), 7.91 – 7.87 (m, 1H), 7.80 ppm (dd,  $J = 8.5, 7.7$  Hz, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 161.78, 150.59, 148.09, 134.40, 134.34, 133.84, 132.19, 131.26, 129.68, 127.26, 126.82, 125.70, 121.09, 117.92, 111.77 ppm.

## 173 4-(4-Chlorchinazolin-2-yl)benzonitril (STK-A23)



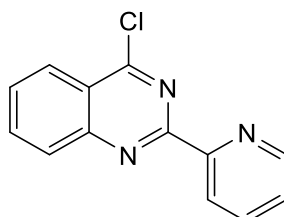
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-(4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)benzonitril (**165**; 1,0 g; 4 mmol) synthetisiert und als beiger Feststoff isoliert (Ausbeute: 77 %).

Summenformel:  $C_{15}H_8ClN_3$

Molekulargewicht: 265,7 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.39 – 8.32 (m, 2H), 8.21 – 8.15 (m, 1H), 8.01 – 7.95 (m, 2H), 7.86 – 7.81 (m, 1H), 7.80 – 7.75 (m, 1H), 7.58 – 7.52 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 161.80, 151.00, 147.98, 136.71, 134.44, 132.22 (2C), 128.53 (2C), 127.27, 126.98, 125.74, 121.12, 118.01, 113.60 ppm.

## 174 4-Chlor-2-(pyridin-2-yl)chinazolin (STK-A27)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 2-(Pyridin-2-yl)chinazolin-4(3H)-on (**166**; 0,761 g; 3,4 mmol) synthetisiert und als brauner Feststoff isoliert (Ausbeute: 89 %).

Summenformel:  $C_{13}H_8ClN_3$

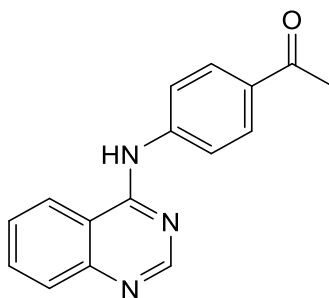
Molekulargewicht: 241,68 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 8.83 – 8.81 (m, 1H), 8.53 – 8.51 (m, 1H), 8.34 (dd,  $J$  = 8.3, 0.6 Hz, 1H), 8.22 (dd,  $J$  = 8.4, 0.5 Hz, 1H), 8.19 – 8.15 (m, 1H), 8.07 – 8.03 (m, 1H), 7.95 – 7.90 (m, 1H), 7.62 – 7.59 ppm (m, 1H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 162.65, 158.92, 153.83, 151.60, 150.35, 137.77, 136.46, 130.48, 129.36, 126.05, 125.96, 124.45, 122.71 ppm.

### 7.1.3.12 Darstellung der 4-Anilinchinazoline

Das zuvor synthetisierte 4-Chlorchinazolin (1 äquiv.) wurde mit 25 ml heißem Isopropanol versetzt und die Lösung anschließend durch portionsweise Zugabe des entsprechenden 3'- oder 4'-Aminoacetophenones (1 äquivalent) ergänzt und für 1-2 h refluxiert. Nach Beendigung der Reaktion, überprüft mittels DC, wurde der gebildete Niederschlag abfiltriert und mit Isopropanol (ca. 15 ml) gewaschen. Die Isolierung des Produktes erfolgte nach Umkristallisation aus Ethanol.

#### 175 1-(4-(Chinazolin-4-ylamino)phenyl)ethanon (STK-A7)



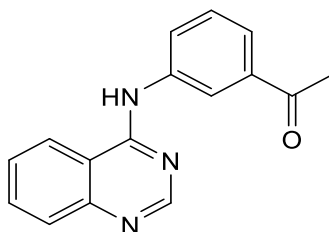
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chlorchinazolin (**167**; 0,312 g; 1,9 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (0,256 g; 1,9 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 58 %).

Summenformel:  $C_{16}H_{13}N_3O$

Molekulargewicht: 263,29 g/mol

$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 11.92 (s, 1H), 9.06 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.14 – 8.09 (m, 1H), 8.09 – 8.03 (m, 3H), 8.01 – 7.97 (m, 2H), 7.90 – 7.85 (m, 1H), 2.60 ppm (s, 3H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 197.05, 160.04, 151.20, 141.30, 139.39, 136.45, 134.47, 130.61, 129.00 (2C), 128.81, 125.23, 124.30, 120.23, 113.95, 26.83 ppm.

#### 176 1-(3-(Chinazolin-4-ylamino)phenyl)ethanon (STK-A6)



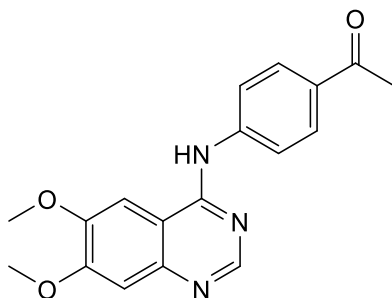
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chlorchinazolin (**167**; 0,312 g; 1,9 mmol) und 3'-Aminoacetophenon (0,256 g; 1,9 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 49 %).

Summenformel:  $C_{16}H_{13}N_3O$

Molekulargewicht: 263,29 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.98 (s, 1H), 9.04 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.32 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.14 – 8.09 (m, 1H), 8.08 – 8.01 (m, 2H), 7.94 – 7.91 (m, 1H), 7.89 – 7.85 (m, 1H), 7.64 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 2.61 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 197.49, 160.18, 151.17, 138.96, 137.49, 137.35, 136.42, 129.51, 129.30, 128.79, 126.60, 125.16, 124.34, 119.95, 113.71, 26.95 ppm.

**177 1-(4-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (STK-A5)**



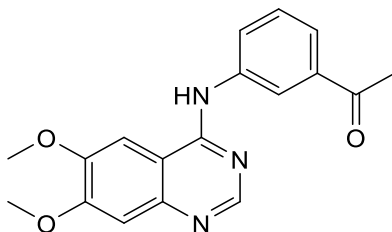
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chloro-6,7-dimethoxychinazoline (**168**; 0,280 g; 1,25 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (0,168 g; 1,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 94 %).

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 323,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.65 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.04 – 8.01 (m, 2H), 7.98 – 7.94 (m, 2H), 7.41 (s, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 2.59 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 196.95, 158.11, 156.58, 150.42, 148.66, 141.64, 136.19, 133.99, 128.88 (2C), 124.03 (2C), 107.81, 104.37, 99.96, 57.26, 56.59, 26.74 ppm.

**178 1-(3-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (KCJ 223)**



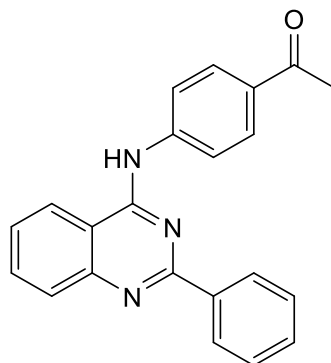
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chloro-6,7-dimethoxychinazolin (**168**; 0,561 g; 2,5 mmol) und 3'-Aminoacetophenon (0,338 g; 2,5 mmol) synthetisiert und als weißer Feststoff isoliert (Ausbeute: 94 %).

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 323,35 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.61 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.27 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.06 – 8.01 (m, 1H), 7.91 – 7.87 (m, 1H), 7.62 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 2.61 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 197.57, 158.36, 156.53, 150.41, 148.82, 137.65, 137.45, 135.90, 129.41, 129.22, 126.20, 124.09, 107.52, 104.28, 99.96, 57.19, 56.61, 26.95 ppm.

**179 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (STK-A14)**



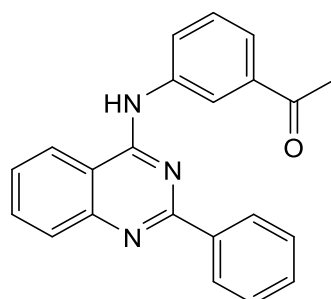
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chlor-2-phenylchinazolin (**169**; 2,2 g; 9 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (1,2 g; 9 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 88 %).

Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O

Molekulargewicht: 339,4 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.50 (s, 1H), 8.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.45 – 8.41 (m, 2H), 8.31 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.11 (s, 4H), 8.08 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.81 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.69 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.63 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.62 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 197.01, 159.05, 157.78, 141.98, 135.81 (2C), 133.84, 133.00, 129.23 (2C), 129.13 (4C), 128.05, 124.62, 123.41 (2C), 113.31, 26.79 ppm. Die Signale für zwei quartäre C-Atome fehlen.

**180 1-(3-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (STK-A15)**



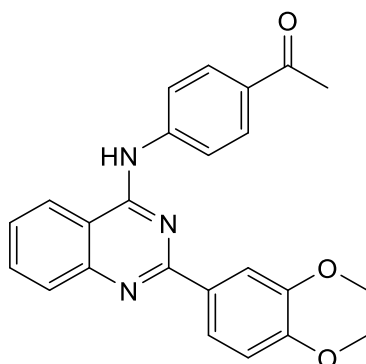
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chlor-2-phenylchinazolin (**169**; 0,240 g; 1 mmol) und 3'-Aminoacetophenon (0,135 g; 1 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 88 %).

Summenformel:  $C_{22}H_{17}N_3O$

Molekulargewicht: 339,4 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.68 (s, 1H), 8.97 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.44 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 8.37 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.15 (dd,  $J$  = 8.0, 1.3 Hz, 1H), 8.08 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.92 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.82 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.71 – 7.65 (m, 2H), 7.61 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 2.63 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 197.58, 159.12 (2C), 157.51, 137.83, 137.40 (2C), 135.90, 133.24, 129.34 (2C), 129.23 (2C), 129.06 (2C), 128.66, 128.14, 126.01, 124.66, 123.61, 113.03, 26.94 ppm.

**181 1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon  
(STK-A11)**



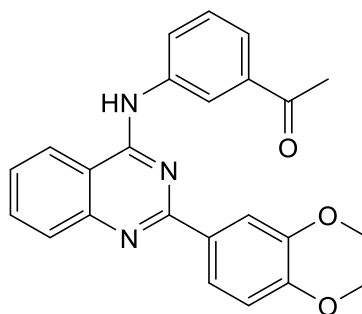
Herstellung: Die Verbindung wurde aus 4-Chlor-2-(3,4-dimethoxyphenyl)chinazolin (**170**; 0,360 g; 1,2 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (0,162 g; 1,2 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 86 %).

Summenformel:  $C_{24}H_{21}N_3O_3$

Molekulargewicht: 399,44 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.58 (s, 1H), 8.88 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.46 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 8.14 – 8.11 (m, 2H), 8.10 – 8.07 (m, 2H), 8.07 – 8.03 (m, 3H), 7.77 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.20 – 7.17 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 2.61 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 197.00, 158.72, 156.64, 153.55, 148.88, 141.67, 135.96 (2C), 134.12, 128.98, 128.93 (2C), 127.87, 124.67, 123.93, 123.78, 112.78, 112.17, 111.82, 56.04, 55.97, 26.80 ppm. Die Signale für zwei quartäre C-Atome fehlen.

**182 1-(3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (STK-A8)**



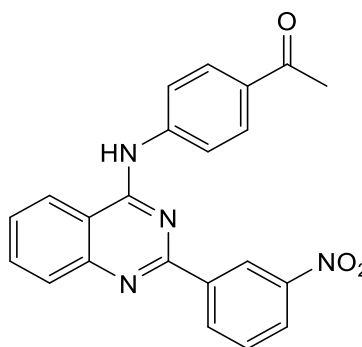
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chlor-2-(3,4-dimethoxyphenyl)chinazolin (**170**; 0,300 g; 1 mmol) und 3'-Aminoacetophenon (0,135 g; 1 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 88 %).

Summenformel:  $C_{24}H_{21}N_3O_3$

Molekulargewicht: 399,44 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.48 (s, 1H), 8.82 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.36 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.14 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 8.11 (dd,  $J$  = 8.5, 2.0 Hz, 1H), 8.07 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 8.04 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.79 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.69 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.19 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.64 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 197.63, 158.85, 156.67, 153.60, 148.89, 137.69, 137.40, 135.93, 129.16 (2C), 129.09, 127.89, 126.29, 124.63, 123.86, 123.80, 112.64, 112.20, 111.72, 56.06, 55.99, 26.97 ppm. Die Signale für zwei quartäre C-Atome fehlen.

**183 1-(4-((2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (STK-A20)**



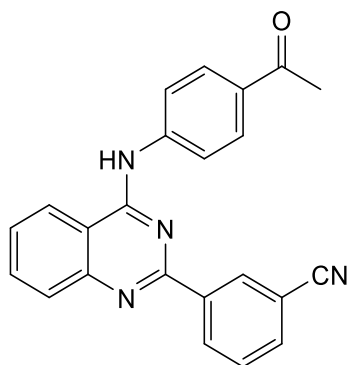
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chlor-2-(3-nitrophenyl)chinazolin (**171**; 1 g; 3,5 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (0,473 g; 3,5 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 60 %).

Summenformel:  $C_{22}H_{16}N_4O_3$

Molekulargewicht: 384,39 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 10.71 (s, 1H), 9.19 – 9.16 (m, 1H), 8.83 – 8.80 (m, 1H), 8.75 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.39 – 8.36 (m, 1H), 8.15 – 8.12 (m, 2H), 8.08 – 8.04 (m, 3H), 8.00 – 7.95 (m, 1H), 7.87 – 7.83 (m, 1H), 7.75 – 7.71 (m, 1H), 2.60 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 196.77, 158.37, 156.53, 148.31, 143.15, 134.63, 134.34, 134.14, 132.72, 130.57, 129.13 (2C), 127.51, 125.69, 123.87, 122.92, 122.05 (2C), 114.15, 26.67 ppm. Die Signale für zwei quartäre C-Atome fehlen.

**184 3-((4-(4-Acetylphenyl)amino)chinazolin-2-yl)benzonitril (STK-A21)**



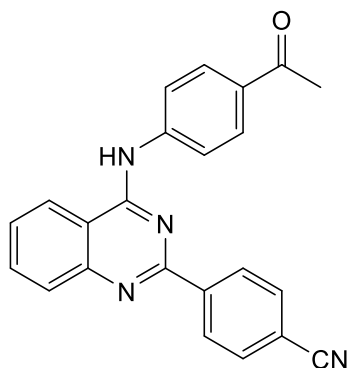
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-Chlorchinazolin-2-yl)benzonitril (**172**; 0,440 g; 1,7 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (0,230 g; 1,7 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 49 %).

Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O

Molekulargewicht: 364,41 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 10.25 (s, 1H), 8.73 – 8.69 (m, 2H), 8.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.15 – 8.12 (m, 2H), 8.09 – 8.05 (m, 2H), 8.00 – 7.97 (m, 1H), 7.95 – 7.93 (m, 2H), 7.78 – 7.74 (m, 1H), 7.71 – 7.67 (m, 1H), 2.59 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 196.73, 158.12, 157.08, 143.73, 139.11, 134.04, 133.97, 132.51, 132.18, 131.42, 130.21, 129.24 (2C), 128.13, 127.04, 123.44, 121.35 (2C), 118.83, 114.41, 111.92, 26.64 ppm. Das Signal für ein quartäres C-Atom fehlt.

**185 4-((4-(4-Acetylphenyl)amino)chinazolin-2-yl)benzonitril (STK-A24)**





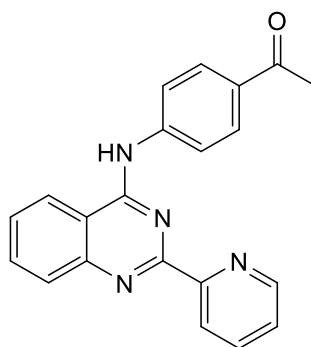
**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-(4-Chlorchinazolin-2-yl)benzonitril (**173**; 0,500 g; 1,9 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (0,257 g; 1,9 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 60 %).

Summenformel:  $C_{23}H_{16}N_4O$

Molekulargewicht: 364,41 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.94 (s, 1H), 8.81 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 8.56 – 8.53 (m, 2H), 8.11 – 8.06 (m, 5H), 8.04 – 7.99 (m, 3H), 7.78 – 7.73 (m, 1H), 2.60 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.84, 158.55, 156.83, 142.81, 134.96, 132.98, 132.82 (2C), 129.25 (2C), 129.20 (3C), 127.84, 124.11, 122.35 (2C), 118.63, 113.93, 113.79, 26.71 ppm. Die Signale für zwei quartäre C-Atome fehlen.

### 186 1-(4-((2-(Pyridin-2-yl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (STK-A29)



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 4-Chlor-2-(pyridin-2-yl)chinazolin (**174**; 0,460 g; 1,9 mmol) und 4'-Aminoacetophenon (0,257 g; 1,9 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 41 %).

Summenformel:  $C_{21}H_{16}N_4O$

Molekulargewicht: 340,39 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.50 (s, 1H), 9.06 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.89 – 8.85 (m, 1H), 8.40 (dt,  $J$  = 7.9, 1.0 Hz, 1H), 8.24 – 8.18 (m, 3H), 8.14 (td,  $J$  = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 8.11 – 8.08 (m, 2H), 8.08 – 8.04 (m, 1H), 7.82 – 7.78 (m, 1H), 7.73 – 7.69 (m, 1H), 2.61 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 196.97, 159.18, 156.23, 150.68, 149.56, 144.27, 142.56, 138.66, 135.51, 133.37, 129.15 (2C), 128.13, 127.08, 124.71, 124.39, 124.03, 122.90 (2C), 114.13, 26.77 ppm.

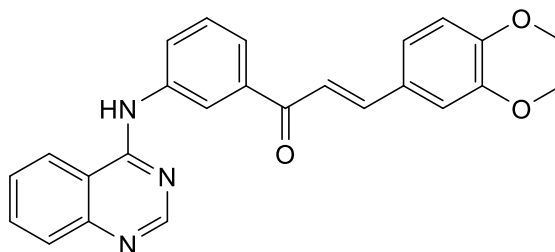
#### 7.1.3.13 Darstellung der Chinazolin-Chalkone

Eine Mischung aus 4-Anilinochinazolin (1 äquiv.), substituierten Benzaldehyd (1 äquiv.) und Lithiumhydroxid (7 äquiv.) in 5 ml Methanol wurde für einen Zeitraum von 30 min in der Mikrowelle bei 100 °C und 120 W umgesetzt. Nach vollständiger Umsetzung wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegeben und der sich bildende Niederschlag abgesaugt. Das Produkt wurde nach

anschließender Umkristallisation (teilweise mehrfach) aus einem Ethanol/Wasser Gemisch (1:1) oder Ethanol als Reinstoff isoliert.

Die in Position 2 mit 3,4-Dimethoxyphenyl/3-Nitrophenyl/3-Cyanophenyl und 4-Cyanophenyl substituierten Chinazolin-Chalkone wurden zusätzlich nach der Umkristallisation nochmals durch Säulenchromatographie (Kieselgel) aufgereinigt. Dabei diente ein Gemisch aus Dichlormethan/Methanol (9:1) für die 3,4-Dimethoxyphenyl substituierten Derivate bzw. Cyclohexan/Ethylacetat (1:1) für alle weiteren genannten Verbindungen als Eluent.

**187 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(3-(chinazolin-4-ylamino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B1)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-(Chinazolin-4-ylamino)phenyl)ethanon (**176**; 100 mg; 0,38 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (63 mg; 0,38 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 34 %).

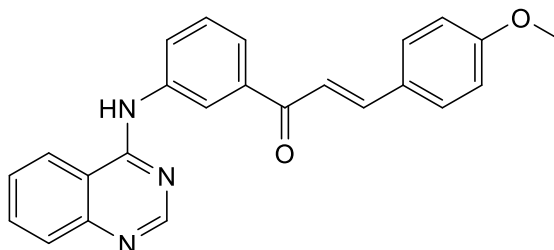
Summenformel:  $C_{25}H_{21}N_3O_3$

Molekulargewicht: 411,45 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.87 (s, 1H), 9.00 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.47 (t,  $J$  = 1.8 Hz, 1H), 8.15 – 8.12 (m, 2H), 8.10 (dd,  $J$  = 8.8, 1.1 Hz, 1H), 8.00 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.91 – 7.87 (m, 1H), 7.82 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.75 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.70 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.54 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 7.41 (dd,  $J$  = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.03 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.66, 160.11, 151.63, 151.38, 149.22, 145.18, 139.32, 138.60, 137.51, 136.38, 129.35, 129.14, 128.80, 127.56, 126.72, 125.00, 124.63, 124.18, 120.27, 119.67, 113.77, 111.80, 111.14, 55.99, 55.80 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 412  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96 %.

**188 (E)-3-(4-Methoxyphenyl)-1-(3-(chinazolin-4-ylamino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B2)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-(Chinazolin-4-ylamino)phenyl)ethanon (**176**; 100 mg; 0,38 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (52 mg; 0,38 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 33 %).

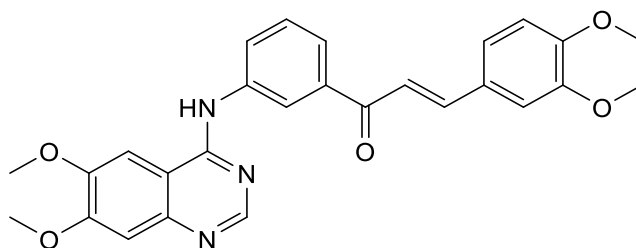
Summenformel:  $C_{24}H_{19}N_3O_2$

Molekulargewicht: 381,43 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.94 (s, 1H), 9.02 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.46 (t,  $J$  = 1.8 Hz, 1H), 8.15 – 8.10 (m, 2H), 8.09 – 8.05 (m, 1H), 8.02 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.91 – 7.88 (m, 1H), 7.87 – 7.84 (m, 2H), 7.77 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 2H), 7.69 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.04 – 6.99 (m, 2H), 3.82 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.58, 161.67, 160.18, 151.26, 144.65, 139.04, 138.56, 137.43, 136.43, 131.02 (2C), 129.38, 129.26, 128.81, 127.36, 126.73, 125.07, 124.81, 120.05, 119.54, 114.60 (2C), 113.72, 55.56 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 382  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98 %.

**189 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(3-((6,7-dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (KCJ 225)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**178**; 161 mg; 0,5 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (83 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %).

Summenformel:  $C_{27}H_{25}N_3O_5$

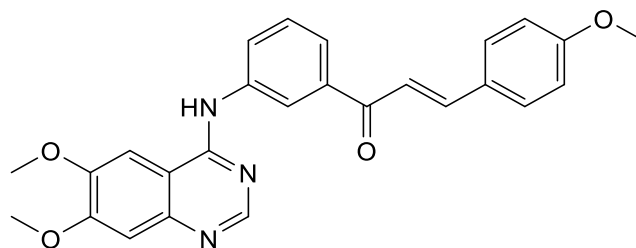
Molekulargewicht: 471,5 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 9.66 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.37 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 8.28 – 8.24 (m, 1H), 7.95 – 7.93 (m, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.80 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.74 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.59 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.53 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 7.40 (dd,  $J$  = 8.4, 2.0 Hz, 1H),

7.20 (s,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 189.23, 156.45, 154.52, 152.89, 151.53, 149.22, 149.16, 147.26, 144.83, 140.27, 138.44, 128.92, 127.66, 126.77, 124.03, 123.71, 121.63, 119.96, 111.81, 111.11, 109.09, 107.39, 102.05, 56.40, 55.99, 55.92, 55.79 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 472  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99 %.

**190 (E)-1-(3-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (KCJ 226)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**178**; 161 mg; 0,5 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (68 mg; 0,5 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 13 %).

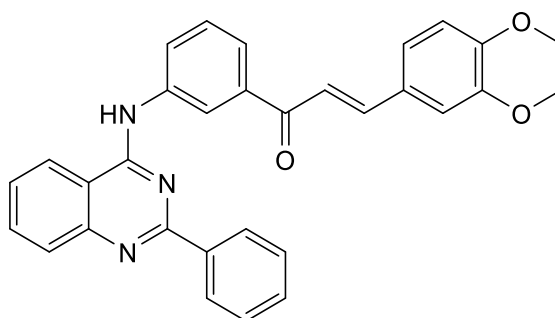
Summenformel:  $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4$

Molekulargewicht: 441,48 g/mol

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.65 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.25 (dd,  $J = 8.0, 1.6$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.89 – 7.83 (m, 3H), 7.76 (d,  $J = 1.6$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 189.15, 161.58, 156.43, 154.51, 152.89, 149.15, 147.25, 144.29, 140.25, 138.39, 130.93 (2C), 128.94, 127.44, 126.76, 123.62, 121.64, 119.82, 114.61 (2C), 109.07, 107.38, 102.03, 56.39, 55.98, 55.54 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 442  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99 %.

**191 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(3-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B6)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**180**; 100 mg; 0,3 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (49 mg; 0,3 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 34 %).

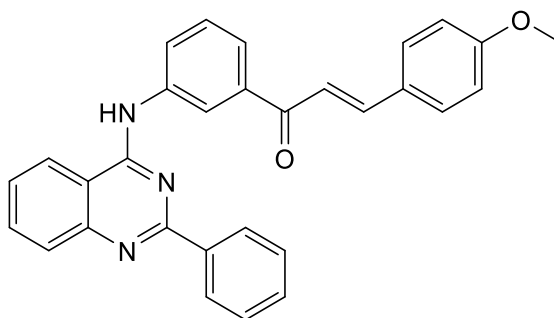
Summenformel:  $C_{31}H_{25}N_3O_3$

Molekulargewicht: 487,55 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 11.53 (s, 1H), 8.94 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.44 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 8.28 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 8.21 – 8.17 (m, 1H), 8.14 – 8.05 (m, 2H), 7.88 – 7.81 (m, 2H), 7.78 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.73 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.63 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.49 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.37 (dd, *J* = 8.3, 1.8 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.78 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 188.76, 159.07, 157.78, 151.58, 149.18 (2C), 145.05, 138.48, 138.16, 138.11, 135.69, 129.28 (2C), 129.14 (2C), 129.03 (2C), 128.15, 128.02, 127.58, 125.93, 124.46, 124.13 (2C), 123.89, 119.66 (2C), 113.18, 111.77, 111.07, 55.87, 55.79 ppm.

LC-MS (*m/z*): 488 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96 %.

**192 (E)-3-(4-Methoxyphenyl)-1-(3-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)-phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B14)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**180**; 100 mg; 0,3 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (40 mg; 0,3 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 22 %).

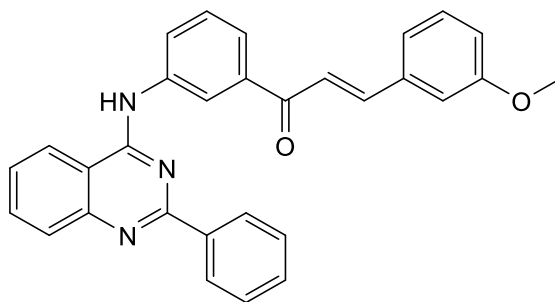
Summenformel:  $C_{30}H_{23}N_3O_2$

Molekulargewicht: 457,52 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.06 (s, 1H), 8.82 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.62 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.52 – 8.48 (m, 2H), 8.26 (dd, *J* = 8.1, 1.4 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.90 – 7.88 (m, 2H), 7.82 – 7.78 (m, 4H), 7.68 – 7.66 (m, 1H), 7.66 – 7.62 (m, 1H), 7.48 – 7.44 (m, 3H), 6.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.81 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 189.16, 161.55, 159.15, 158.05, 150.70, 144.24, 140.07, 138.45, 138.39, 133.50, 130.88 (2C), 130.43, 129.05, 128.55 (2C), 128.34, 128.09 (2C), 127.44, 126.32, 126.23, 123.76, 123.18, 121.81, 119.82, 114.57 (2C), 114.16, 55.54 ppm.

LC-MS (*m/z*): 458 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95 %.

**193 (E)-3-(3-Methoxyphenyl)-1-(3-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B7)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**180**; 100 mg; 0,3 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (40 mg; 0,3 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 48 %).

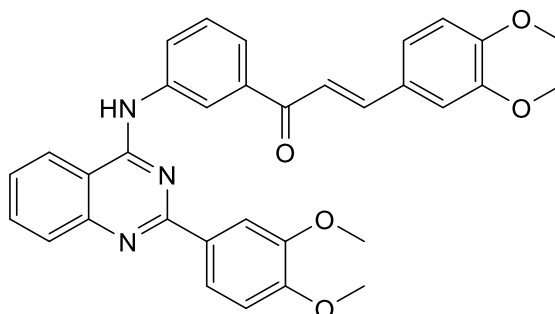
Summenformel:  $C_{30}H_{23}N_3O_2$

Molekulargewicht: 457,52 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.62 (s, 1H), 8.97 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.44 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 8.32 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 8.20 (dd,  $J$  = 7.91, 1.3 Hz, H), 8.13 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 8.08 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.96 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.85 – 7.76 (m, 2H), 7.73 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.63 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 7.56 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.45 – 7.42 (m, 1H), 7.39 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.34 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.02 (dd,  $J$  = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 3.78 ppm (s, 3H).  
 **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 189.33, 159.77, 159.11, 158.02, 150.68, 144.23, 140.09, 138.33, 138.11, 136.18, 133.49, 130.41, 130.04, 129.09, 128.53 (2C), 128.32, 128.06, 126.56, 126.22, 123.94, 123.16, 122.60, 121.86, 121.67, 116.87, 114.56, 114.13, 113.60, 55.38 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 458  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99 %.

**194 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(3-((2-(3,4-dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B10)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**182**; 100 mg; 0,25 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (42 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 31 %).

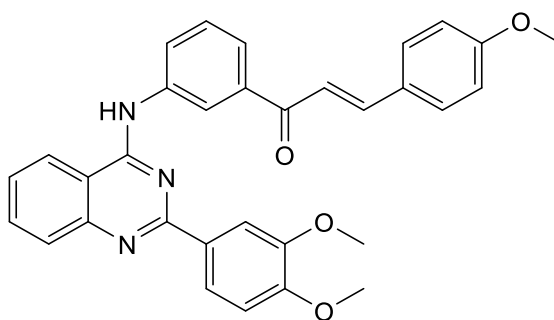
Summenformel:  $C_{33}H_{29}N_3O_5$

Molekulargewicht: 547,6 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 11.54 (s, 1H), 8.88 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.42 – 8.33 (m, 1H), 8.17 – 8.11 (m, 3H), 8.08 – 8.04 (m, 2H), 7.84 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.81 – 7.77 (m, 2H), 7.76 – 7.71 (m, 1H), 7.48 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.36 (dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.80 (s, 3H), 3.79 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 188.70, 158.88, 156.82, 153.47, 151.61 (2C), 149.17, 148.88, 145.09, 138.42 (2C), 135.87 (2C), 129.20, 128.69, 127.84, 127.55, 126.18, 124.69, 124.35, 124.13, 119.62 (2C), 112.76, 111.71, 112.15, 111.75, 111.10, 55.94 (2C), 55.90, 55.79 ppm. Das Signal für ein quartäres C-Atom fehlt.

LC-MS (*m/z*): 548 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95 %.

**195 (*E*)-1-(3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK-B11)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**182**; 100 mg; 0,25 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (34 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 18 %).

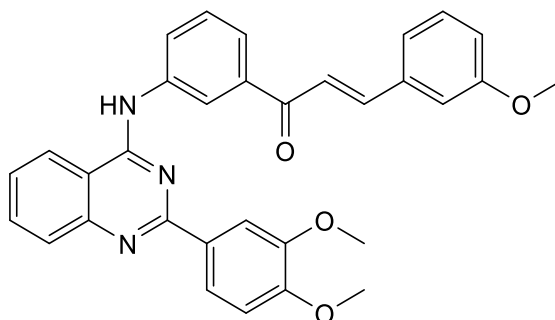
Summenformel: C<sub>32</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 517,57 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 10.03 (s, 1H), 8.78 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.30 – 8.25 (m, 1H), 8.10 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.66 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.45 – 7.43 (m, 1H), 7.40 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.34 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.04 – 7.00 (m, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.76 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ:** 189.36, 159.79, 158.91, 157.83, 151.04, 150.81, 148.63, 144.28, 140.14, 138.09, 136.16, 133.41, 130.94, 130.05, 128.99, 128.12, 126.75, 125.75, 123.92, 123.14, 122.58, 121.93, 121.70, 121.28, 116.88, 113.89, 113.64, 111.46, 111.07, 55.62, 55.40, 55.36 ppm.

LC-MS (*m/z*): 518 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97 %.

**196 (E)-1-(3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK-B44)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**182**; 100 mg; 0,25 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (34 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 20 %).

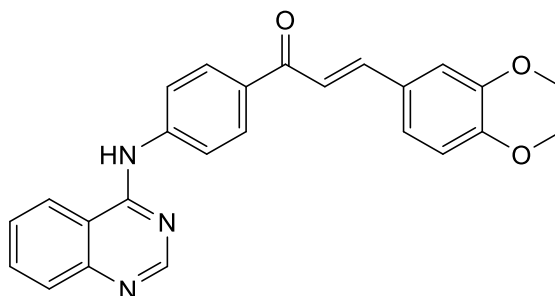
Summenformel:  $C_{32}H_{27}N_3O_4$

Molekulargewicht: 517,57 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.57 (s, 1H), 8.86 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.37 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 8.15 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 8.12 (dd,  $J$  = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 8.07 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 8.03 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.81 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.78 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.74 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.43 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 7.39 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.34 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.11 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.02 (dd,  $J$  = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.79 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO)  $\delta$ :** 188.90, 159.80, 158.91, 156.93, 156.91, 153.47, 148.91, 144.62, 138.12, 137.94, 136.08, 135.95, 130.07, 129.35, 128.91, 127.89, 127.82, 124.48, 124.35, 124.28, 123.51, 122.30, 121.78, 116.95, 113.72, 112.74, 112.01, 111.76, 55.98, 55.84, 55.46 ppm. Das Signal für ein quartäres C-Atom fehlt.

LC-MS ( $m/z$ ): 518  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97 %.

**197 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(4-(chinazolin-4-ylamino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B3)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-(Chinazolin-4-ylamino)phenyl)ethanon (**175**; 100 mg; 0,38 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (63 mg; 0,38 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 23 %).

Summenformel:  $C_{25}H_{21}N_3O_3$

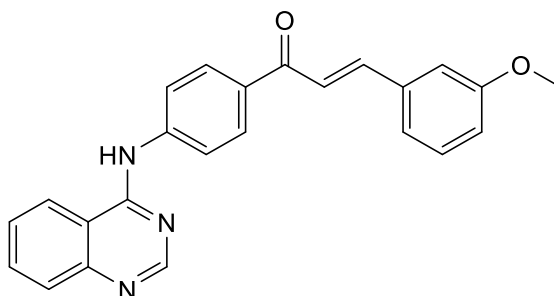


Molekulargewicht: 411,45 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 10.06 (s, 1H), 8.72 (s, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.62 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 8.18 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.90 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.88 – 7.82 (m, 2H), 7.73 – 7.66 (m, 2H), 7.54 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 187.61, 157.62, 154.34, 151.36, 150.01, 149.21, 143.96, 143.92, 133.45, 132.70, 129.51 (2C), 128.10, 127.82, 126.71, 123.93, 123.22, 121.03 (2C), 119.81, 115.50, 111.78, 110.94, 55.92, 55.76 ppm.

LC-MS (*m/z*): 412 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95 %.

**198 (*E*)-3-(3-Methoxyphenyl)-1-(4-(chinazolin-4-ylamino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B4)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus 1-(4-(Chinazolin-4-ylamino)phenyl)ethanon (**175**; 100 mg; 0,38 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (52 mg; 0,38 mmol) synthetisiert und als senfgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 44 %).

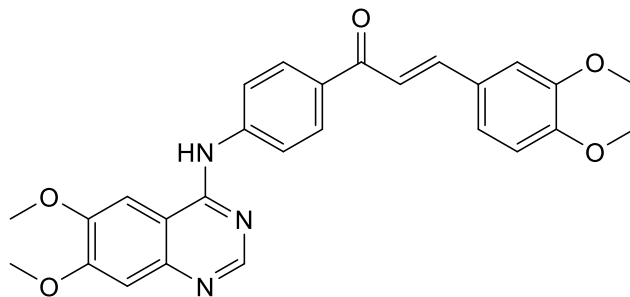
Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 381,41 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 11.05 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.84 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.11 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.06 – 8.02 (m, 1H), 7.98 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.84 – 7.79 (m, 1H), 7.73 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.50 – 7.48 (m, 1H), 7.44 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.37 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.03 (dd, *J* = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 3.84 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 187.98, 159.83 (2C), 158.96, 152.63, 143.82, 142.62, 136.30, 135.19, 133.94, 130.08, 129.57 (2C), 127.94, 124.28, 123.72, 122.87, 122.45 (2C), 121.81, 116.81, 114.66, 113.54, 55.48 ppm.

LC-MS (*m/z*): 382 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97 %.

**199 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(4-((6,7-dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-one(STK-B15)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**177**; 100 mg; 0,31 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (50 mg; 0,31 mmol) synthetisiert und als senfgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 29 %).

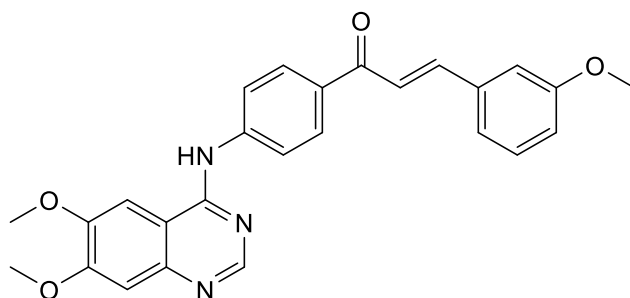
Summenformel:  $C_{27}H_{25}N_3O_5$

Molekulargewicht: 471,5 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.54 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.42 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 8.26 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 8.04 – 8.00 (m, 2H), 7.86 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.71 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.54 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 7.41 – 7.37 (m, 2H), 7.02 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.89, 158.10, 156.62, 151.49, 150.47, 149.20, 144.50, 141.58, 136.58, 135.00, 129.27 (2C), 127.69, 124.09, 124.00 (2C), 119.66, 111.76, 111.02, 107.92, 104.22, 100.27, 100.25, 57.21, 56.63, 55.94, 55.78 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 472  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96 %.

**200 (E)-1-(4-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK-B5)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((6,7-Dimethoxychinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**177**; 100 mg; 0,31 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (42 mg; 0,31 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 54 %).

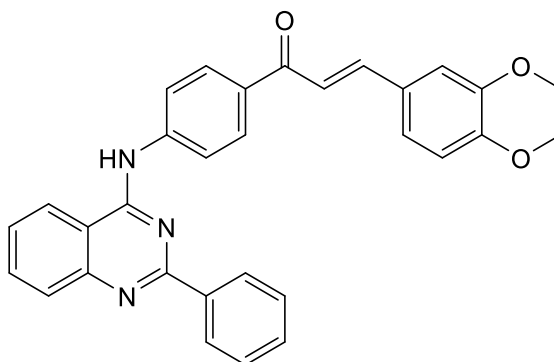
Summenformel:  $C_{26}H_{23}N_3O_4$

Molekulargewicht: 441,48 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 9.73 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.11 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.97 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.71 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.37 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.02 (dd, *J* = 7.9, 2.1 Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.84 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 187.63, 159.82, 155.99, 154.70, 152.68, 149.31, 147.53, 144.62, 143.31, 136.40, 131.94, 130.04, 129.69 (2C), 122.52, 121.68, 120.76 (2C), 116.64, 113.50, 109.42, 107.40, 102.00, 56.43, 56.01, 55.45 ppm.

LC-MS (*m/z*): 442 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97 %.

**201 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)-phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B8)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 100 mg; 0,3 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (49 mg; 0,3 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 16 %).

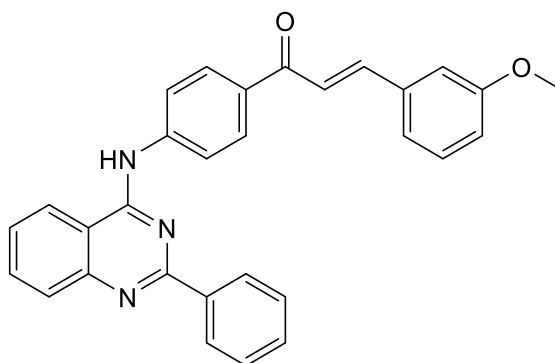
Summenformel: C<sub>31</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 487,55 g/mol

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 10.15 (s, 1H), 8.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.50 (dd, 2H), 8.32 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.94 – 7.88 (m, 3H), 7.73 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.69 – 7.64 (m, 1H), 7.59 – 7.50 (m, 4H), 7.41 (dd, *J* = 8.3, 1.8 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H). **<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ:** 187.55, 159.10, 157.89, 151.37, 150.73, 149.22, 144.10, 144.02, 138.23, 133.70, 132.66, 130.61, 129.65 (2C), 128.71 (2C), 128.34, 128.11 (2C), 127.86, 126.41, 123.96, 123.31, 120.97 (2C), 119.76, 114.32, 111.78, 111.09, 55.97, 55.77 ppm.

LC-MS (*m/z*): 488 [M+H]<sup>+</sup>. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96 %.

**202 (E)-3-(3-Methoxyphenyl)-1-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)-prop-2-en-1-on (STK-B9)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 100 mg; 0,3 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (40 mg; 0,38 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 44 %).

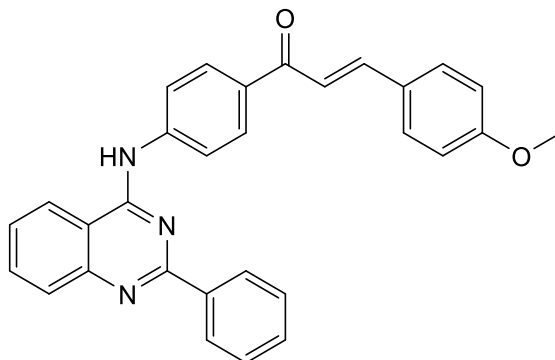
Summenformel:  $C_{30}H_{23}N_3O_2$

Molekulargewicht: 457,52 g/mol

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.15 (s, 1H), 8.64 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 8.52 – 8.49 (m, 2H), 8.33 (d, 2H), 8.28 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.04 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H), 7.93 – 7.90 (m, 2H), 7.74 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 7.68 – 7.64 (m, 1H), 7.58 – 7.54 (m, 2H), 7.54 – 7.52 (m, 1H), 7.51 (d,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 7.46 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.38 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.03 (dd,  $J = 8.1$ , 2.0 Hz, 1H), 3.84 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.63, 159.80, 159.06, 157.84, 150.78, 144.35, 143.45, 138.23, 136.38, 133.67, 132.25, 130.57, 130.02, 129.80 (2C), 128.68 (2C), 128.37, 128.07 (2C), 126.39, 123.28, 122.45, 121.75, 120.90 (2C), 116.63, 114.31, 113.57, 55.45 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 458  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97 %.

**203 (E)-3-(4-Methoxyphenyl)-1-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)-prop-2-en-1-on (STK-B25)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 100 mg; 0,3 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (40 mg; 0,3 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 41 %).

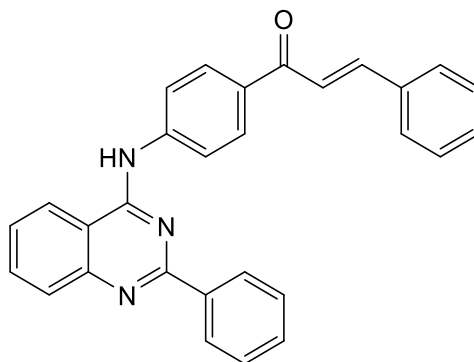
Summenformel:  $C_{30}H_{23}N_3O_2$

Molekulargewicht: 457,52 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.13 (s, 1H), 8.64 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 8.53 – 8.48 (m, 2H), 8.32 – 8.28 (m, 2H), 8.28 – 8.25 (m, 2H), 7.92 – 7.91 (m, 2H), 7.90 – 7.85 (m, 3H), 7.74 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.68 – 7.64 (m, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 3H), 7.06 – 7.03 (m, 2H), 3.83 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.53, 161.41, 159.08, 157.85, 150.78, 144.09, 143.41, 138.26, 133.66, 132.60, 130.83 (2C), 130.57, 129.60 (2C), 128.68 (2C), 128.38, 128.08 (2C), 127.64, 126.38, 123.27, 120.93 (2C), 119.71, 114.53 (2C), 114.31, 55.51 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 458  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99 %.

**204 (E)-3-Phenyl-1-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B24)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 100 mg; 0,3 mmol) und Benzaldehyd (32 mg; 0,3 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 43 %).

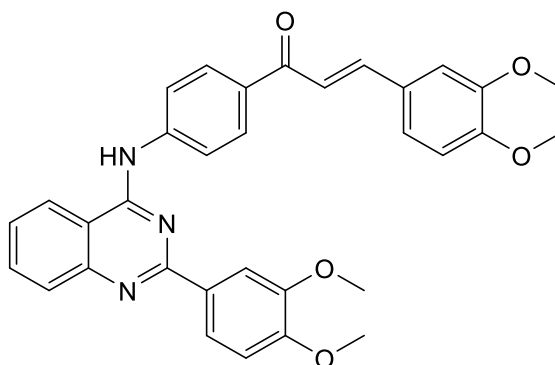
Summenformel:  $C_{29}H_{21}N_3O$

Molekulargewicht: 427,51 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.51 (s, 1H), 8.96 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.45 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 8.36 – 8.29 (m, 3H), 8.18 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 8.11 – 8.06 (m, 1H), 8.02 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.91 (dd,  $J$  = 6.6, 2.8 Hz, 2H), 7.82 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.78 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.71 – 7.62 (m, 3H), 7.51 – 7.44 ppm (m, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.99, 159.01, 157.82, 143.95, 142.16, 135.77, 134.88, 134.37, 132.94 (2C), 130.75, 129.56 (2C), 129.21 (2C), 129.13 (2C), 129.05, 129.04, 128.03 (2C), 124.60, 123.41 (2C), 122.16 (2C), 113.37 ppm. Das Signal für ein C-Atom fehlt.

LC-MS ( $m/z$ ): 428  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96 %.

**205 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(4-((2-(3,4-dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B12)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**181**; 100 mg; 0,25 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (42 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 28 %).

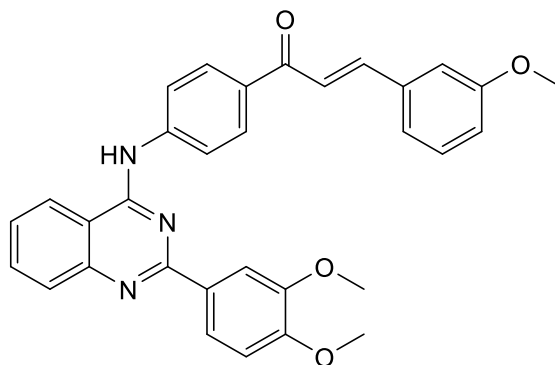
Summenformel:  $C_{33}H_{29}N_3O_5$

Molekulargewicht: 547,6 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.10 (s, 1H), 8.59 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 8.30 – 8.25 (m, 4H), 8.11 – 8.08 (m, 2H), 7.90 – 7.86 (m, 3H), 7.72 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H), 7.64 – 7.59 (m, 1H), 7.56 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.40 (dd,  $J = 8.4, 1.9$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.59, 158.87, 157.61, 151.37, 151.17, 150.94, 149.21, 148.71, 144.18, 143.97, 133.57, 132.63, 130.85, 129.49 (2C), 128.19, 127.84, 125.90, 123.91, 123.24, 121.35, 121.05 (2C), 119.80, 114.05, 111.79, 111.64, 111.13, 111.05, 55.94, 55.77, 55.73, 55.47 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 548  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98 %.

**206 (E)-1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)Chinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK-B13)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**181**; 100 mg; 0,25 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (34 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 39 %).

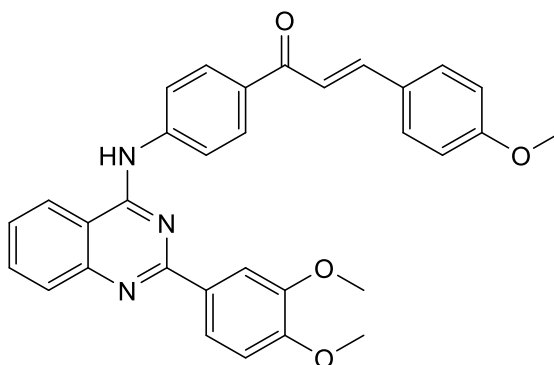
Summenformel:  $C_{32}H_{27}N_3O_4$

Molekulargewicht: 517,57 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.52 (s, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.42 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 8.33 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 8.15 – 8.11 (m, 4H), 8.06 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.79 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.74 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.51 – 7.48 (m, 1H), 7.45 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.38 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.22 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.07 – 7.02 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.84 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.06, 159.84 (2C), 158.75, 156.87, 153.46, 148.92, 144.04, 141.91, 136.26 (2C), 135.92, 134.67, 130.10, 129.45 (2C), 127.84, 124.56, 123.86, 123.68, 122.37 (2C), 121.81, 116.81 (2C), 113.67, 112.93, 112.14, 111.90, 56.04, 55.99, 55.49 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 518  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100 %.

**207 (E)-1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on (STK-B26)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**181**; 100 mg; 0,25 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (34 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 37 %).

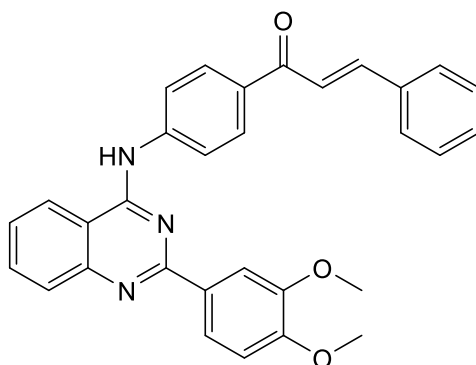
Summenformel:  $C_{32}H_{27}N_3O_4$

Molekulargewicht: 517,57 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.25 (s, 1H), 8.80 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 8.31 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 8.15 – 8.10 (m, 4H), 8.05 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.89 – 7.83 (m, 4H), 7.80 – 7.77 (m, 1H), 7.75 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.22 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H), 7.04 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.83 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.87, 161.56 (2C), 158.62, 156.93, 153.31, 148.88, 143.99, 141.82, 135.73, 134.84, 131.04, 130.93 (2C), 130.38, 129.25 (2C), 127.70, 127.51 (2C), 124.50, 123.68, 123.56, 119.58, 114.59 (2C), 112.96, 112.07, 111.85, 56.01, 55.96, 55.55 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 518  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99 %.

**208 (E)-1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-phenylprop-2-en-1-on (STK-B43)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon (**181**; 100 mg; 0,25 mmol) und Benzaldehyd (27 mg; 0,25 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 19 %).

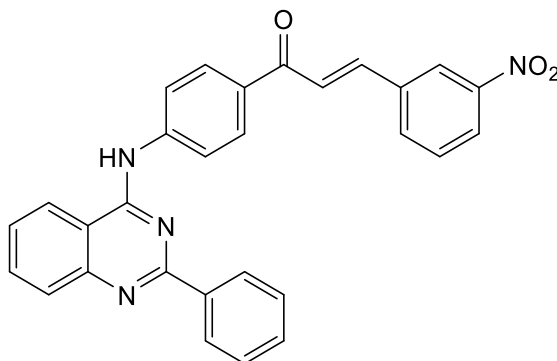
Summenformel:  $C_{31}H_{25}N_3O_3$

Molekulargewicht: 487,56 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.39 (s, 1H), 8.83 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 8.34 (d,  $J = 8.7$  Hz, 3H), 8.16 – 8.11 (m, 4H), 8.07 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 8.00 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H), 7.93 – 7.88 (m, 2H), 7.79 (dd,  $J = 15.4, 8.0$  Hz, 2H), 7.51 – 7.45 (m, 3H), 7.23 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.88 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.14, 158.75, 156.74, 153.59, 148.94 (2C), 144.13, 141.80, 141.39, 136.05, 134.88 (2C), 134.79, 130.87, 129.42 (2C), 129.16 (2C), 129.08 (2C), 127.97, 124.64, 123.99 (2C), 123.79, 122.14, 112.85, 112.14, 111.89, 56.08, 56.02 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 488 [M+H] $^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95 %.

**209 (E)-3-(3-Nitrophenyl)-1-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B16)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 150 mg; 0,44 mmol) und 3-Nitrobenzaldehyd (66,5 mg; 0,44 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 50 %).



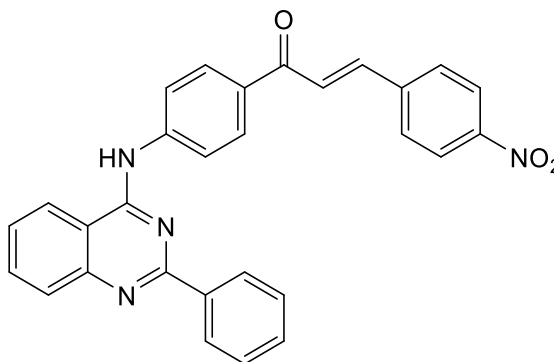
Summenformel:  $C_{29}H_{20}N_4O_3$

Molekulargewicht: 472,49 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.08 (s, 1H), 8.84 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 8.80 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 8.46 – 8.43 (m, 2H), 8.39 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 8.36 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 8.29 – 8.25 (m, 2H), 8.24 – 8.20 (m, 3H), 8.15 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 8.06 – 8.02 (m, 1H), 7.88 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.80 – 7.74 (m, 2H), 7.63 ppm (d,  $J$  = 7.1 Hz, 2H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.82, 159.01, 157.84, 148.61, 142.54, 141.37, 136.82, 135.72, 135.28, 133.95, 132.89, 130.51, 129.76 (2C), 129.24, 129.11 (2C), 127.97, 124.91, 124.78, 124.72, 123.35, 123.15 (2C), 113.45 ppm. Insgesamt fehlen die Signale für vier C-Atome.

LC-MS ( $m/z$ ): 473  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97 %.

**210 (E)-3-(4-Nitrophenyl)-1-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B17)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 100 mg; 0,3 mmol) und 4-Nitrobenzaldehyd (45 mg; 0,3 mmol) synthetisiert und als ockerfarbener Feststoff isoliert (Ausbeute: 37 %).

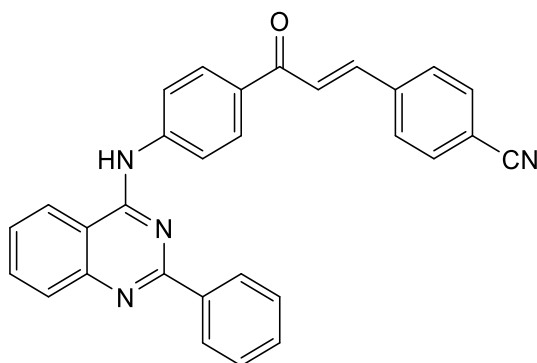
Summenformel:  $C_{29}H_{20}N_4O_3$

Molekulargewicht: 472,49 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.35 (s, 1H), 8.67 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.48 (dd,  $J$  = 7.6, 1.8 Hz, 2H), 8.35 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H), 8.31 – 8.26 (m, 4H), 8.22 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 8.19 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 7.97 – 7.93 (m, 2H), 7.84 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.72 – 7.67 (m, 1H), 7.59 – 7.54 ppm (m, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.46, 158.88, 158.04, 148.17, 144.34, 141.51, 140.66, 134.06, 132.23, 130.99, 129.98 (2C), 129.96 (2C), 128.78 (2C), 128.24 (2C), 126.71, 126.29, 124.04 (2C), 123.48, 121.29, 114.17 ppm. Insgesamt fehlen die Signale für vier C-Atome.

LC-MS ( $m/z$ ): 473  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 93 %.

**211 (E)-4-(3-Oxo-3-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-1-en-1-yl)benzonitril (STK-B19)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 80 mg; 0,24 mmol) und 4-Cyanobenzaldehyd (32 mg; 0,24 mmol) synthetisiert und als senfgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 59 %).

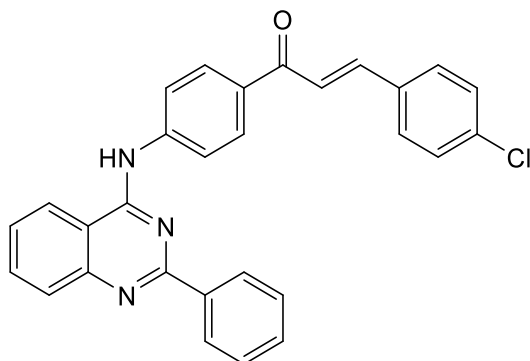
Summenformel:  $C_{30}H_{20}N_4O$

Molekulargewicht: 452,52 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.15 (s, 1H), 8.63 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 8.51 – 8.49 (m, 2H), 8.36 – 8.32 (m, 2H), 8.31 – 8.27 (m, 2H), 8.19 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 8.12 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.94 – 7.92 (m, 3H), 7.92 – 7.91 (m, 1H), 7.79 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.68 – 7.65 (m, 1H), 7.57 – 7.52 ppm (m, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.44, 159.06, 157.84, 150.79, 144.61, 141.18, 139.59, 138.23, 133.70, 132.82 (2C), 131.95, 130.60, 129.97 (2C), 129.53 (2C), 128.69 (2C), 128.39, 128.08 (2C), 126.42, 125.54, 123.28, 120.89 (2C), 118.78, 114.32, 112.30 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 453  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 90 %.

**212 (E)-3-(4-Chlorphenyl)-1-(4-((2-phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B22)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 150 mg; 0,44 mmol) und 4-Chlorbenzaldehyd (62 mg; 0,44 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 26 %).

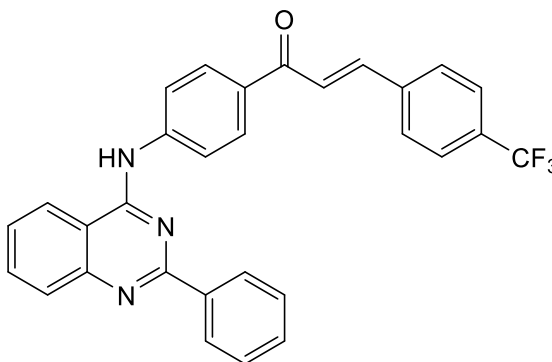
Summenformel:  $C_{29}H_{20}ClN_3O$

Molekulargewicht: 461,95 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.58 (s, 1H), 9.01 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.50 – 8.46 (m, 2H), 8.36 – 8.33 (m, 2H), 8.19 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 8.12 – 8.06 (m, 2H), 8.05 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.96 (dd,  $J$  = 8.8, 2.1 Hz, 2H), 7.81 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.76 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.68 – 7.62 (m, 3H), 7.56 – 7.51 ppm (m, 2H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.86, 159.01, 157.82, 142.43, 142.29, 135.72, 135.21, 133.88 (2C), 132.91, 130.74 (2C), 129.58 (2C), 129.23, 129.10 (2C), 129.09 (2C), 127.97, 124.68, 123.39, 122.90 (2C), 113.41 ppm. Insgesamt fehlen die Signale für vier C-Atome.

LC-MS ( $m/z$ ): 462  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 94 %.

**213 (E)-1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(4-(trifluormethyl)-phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B23)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-Phenylchinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**179**; 150 mg; 0,44 mmol) und 4-Trifluormethylbenzaldehyd (77 mg; 0,44 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 29 %).

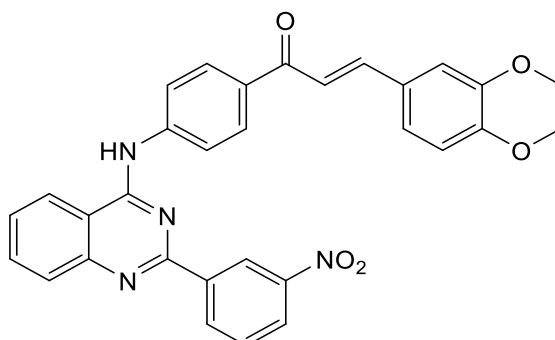
Summenformel:  $C_{30}H_{20}F_3N_3O$

Molekulargewicht: 495,49 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.39 (s, 1H), 8.94 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.48 – 8.45 (m, 2H), 8.37 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 8.21 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 8.17 (d,  $J$  = 15.8 Hz, 1H), 8.13 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 8.06 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.85 – 7.80 (m, 4H), 7.68 – 7.61 ppm (m, 4H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.85, 158.90, 157.99, 141.84, 138.95, 135.52, 130.29, 130.04, 129.75 (2C), 129.60 (2C), 129.08 (2C), 127.83, 125.83 (d,  $J$  = 3.7 Hz, 1C), 124.87, 124.48, 123.08, 113.52 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 496  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 93 %.

**214 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(4-((2-(3-nitrophenyl)chinazolin-4-yl)-amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B33)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**183**; 80 mg; 0,21 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (33 mg; 0,21 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 66 %).

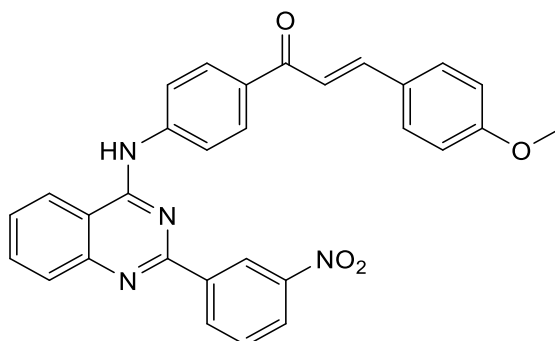
Summenformel:  $C_{31}H_{24}N_4O_5$

Molekulargewicht: 532,56 g/mol

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.49 (s, 1H), 9.25 – 9.22 (m, 1H), 8.87 – 8.84 (m, 1H), 8.74 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 8.38 – 8.34 (m, 1H), 8.27 – 8.23 (m, 2H), 8.22 – 8.18 (m, 2H), 8.07 – 8.03 (m, 1H), 7.99 – 7.95 (m, 1H), 7.88 – 7.83 (m, 1H), 7.81 – 7.76 (m, 1H), 7.74 – 7.69 (m, 2H), 7.50 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 7.38 (dd,  $J$  = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.03 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.84 ppm (s, 3H).  **$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.73, 158.12, 156.57, 151.36, 149.22, 148.67, 148.24, 143.62, 142.96, 138.72, 133.93, 133.84, 133.40, 130.08, 129.00 (2C), 127.74, 126.89, 126.86, 124.91, 123.39, 123.25, 122.48, 121.65 (2C), 120.04, 114.07, 112.11, 111.65, 55.90, 55.68 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 533  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 94 %.

**215 (E)-3-(4-Methoxyphenyl)-1-(4-((2-(3-nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)-phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B34)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**183**; 80 mg; 0,21 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (27 mg; 0,21 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 30 %).

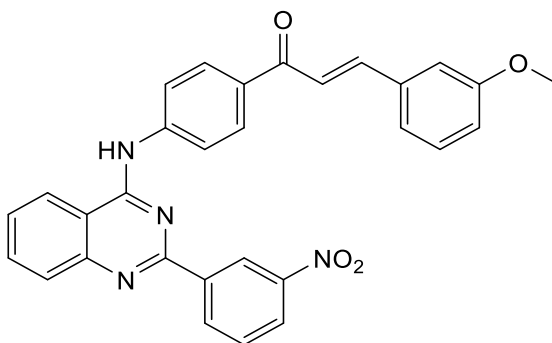
Summenformel:  $C_{30}H_{22}N_4O_4$

Molekulargewicht: 502,53 g/mol

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.64 (s, 1H), 9.24 – 9.22 (m, 1H), 8.85 – 8.82 (m, 1H), 8.75 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 8.41 – 8.38 (m, 1H), 8.31 – 8.27 (m, 2H), 8.22 – 8.19 (m, 2H), 8.04 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 8.01 – 7.97 (m, 1H), 7.90 – 7.85 (m, 4H), 7.77 – 7.73 (m, 2H), 7.03 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 3.83 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.73, 161.49, 158.36, 156.72, 148.38, 143.70, 143.23, 134.55, 134.31, 133.50, 130.89 (2C), 130.63, 129.50 (2C), 129.20, 127.60, 127.47, 125.59, 123.79, 122.84, 121.98, 119.69 (2C), 114.59 (2C), 114.30, 55.56 ppm. Insgesamt sind die Signale für zwei quartäre C-Atome nicht sichtbar.

LC-MS ( $m/z$ ): 503  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98 %.

**216 (E)-3-(3-Methoxyphenyl)-1-(4-((2-(3-nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)-phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B35)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**183**; 80 mg; 0,21 mmol) und 3-Methoxybenzaldehyd (27 mg; 0,21 mmol) synthetisiert und als oranger Feststoff isoliert (Ausbeute: 21 %).

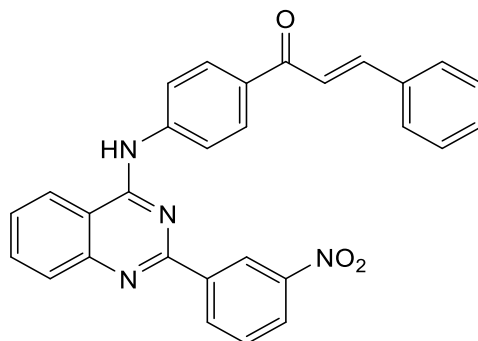
Summenformel:  $C_{30}H_{22}N_4O_4$

Molekulargewicht: 502,53 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.72 (s, 1H), 9.23 – 9.21 (m, 1H), 8.86 – 8.82 (m, 1H), 8.77 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 8.41 – 8.38 (m, 1H), 8.33 – 8.29 (m, 2H), 8.24 – 8.19 (m, 2H), 8.09 – 8.05 (m, 1H), 8.03 – 7.97 (m, 2H), 7.87 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.78 – 7.71 (m, 2H), 7.51 – 7.48 (m, 1H), 7.45 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.38 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.05 – 7.01 (m, 1H), 3.84 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.89, 159.84, 158.40, 156.63, 148.35, 143.71, 143.36, 136.35, 134.63, 134.35, 133.27, 130.62, 130.08, 129.65 (2C), 129.16, 127.52, 126.64, 125.67, 123.87, 122.90, 122.48, 122.09, 121.77, 116.76, 114.25, 113.57, 55.49 ppm. Insgesamt sind die Signale für zwei quartäre C-Atome nicht sichtbar.

LC-MS ( $m/z$ ): 503  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 93 %.

**217 (E)-1-(4-((2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)-3-phenylprop-2-en-1-on (STK-B36)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(3-Nitrophenyl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**183**; 80 mg; 0,21 mmol) und Benzaldehyd (21 mg; 0,21 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 41 %).

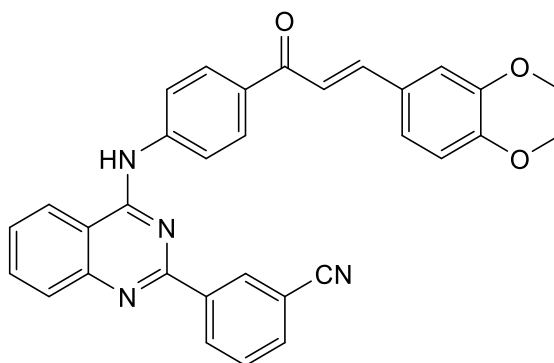
Summenformel:  $C_{29}H_{20}N_4O_3$

Molekulargewicht: 472,5 g/mol

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.69 (s, 1H), 9.24 – 9.21 (m, 1H), 8.86 – 8.82 (m, 1H), 8.76 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.41 – 8.38 (m, 1H), 8.31 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 8.21 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 8.07 – 8.04 (m, 1H), 8.03 – 7.97 (m, 2H), 7.92 – 7.89 (m, 2H), 7.88 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.77 (d,  $J$  = 15.6 Hz, 1H), 7.76 – 7.73 (m, 1H), 7.49 – 7.45 ppm (m, 3H).  **$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.19, 158.69, 156.98, 148.67, 144.02, 143.71, 135.26, 134.91, 134.64, 133.55, 131.01, 130.94, 129.95 (2C), 129.39 (2C), 129.31 (2C), 127.81, 125.94, 124.15, 123.18, 122.56 (2C), 122.35 (2C), 114.59 ppm. Das Signal für zwei quartäres C-Atom fehlt.

LC-MS ( $m/z$ ): 473  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96 %.

**218 (E)-3-(4-((4-(3-(3,4-Dimethoxyphenyl)acryloyl)phenyl)amino)chinazolin-2-yl)benzonitril (STK-B37)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 3-(4-((4-Acetylphenyl)amino)chinazolin-2-yl)benzonitril (**184**; 80 mg; 0,22 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (37 mg; 0,22 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 21 %).

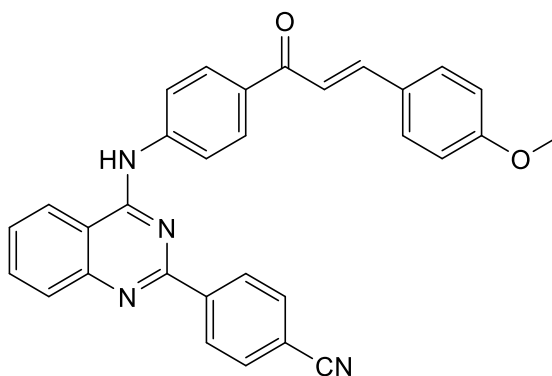
Summenformel:  $C_{32}H_{24}N_4O_3$

Molekulargewicht: 512,57 g/mol

**$^1H$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.73 (s, 1H), 8.78 – 8.73 (m, 2H), 8.72 – 8.69 (m, 1H), 8.34 – 8.29 (m, 2H), 8.18 (t,  $J$  = 9.2 Hz, 2H), 8.08 – 8.03 (m, 2H), 8.00 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 7.89 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.81 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.79 – 7.75 (m, 1H), 7.73 (d,  $J$  = 15.5 Hz, 1H), 7.56 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 7.40 (dd,  $J$  = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.03 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 188.03, 158.78, 157.15, 151.74, 149.53 (2C), 144.59, 143.43, 135.00, 134.93, 133.95, 133.20, 132.12, 130.69, 129.86 (2C), 129.54, 128.10, 127.83, 124.38, 124.20, 122.43, 121.97, 120.01 (2C), 119.01, 114.50, 112.35, 112.09, 111.32, 56.28, 56.11 ppm.

LC-MS ( $m/z$ ): 513  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 90 %.

**219 (E)-4-(4-((4-(3-(4-Methoxyphenyl)acryloyl)phenyl)amino)chinazolin-2-yl)benzonitril (STK-B42)**



Herstellung: Die Verbindung wurde aus 4-(4-((4-Acetylphenyl)amino)chinazolin-2-yl)benzonitril (**185**; 80 mg; 0,22 mmol) und 4-Methoxybenzaldehyd (30 mg; 0,22 mmol) synthetisiert und als gelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 32 %).

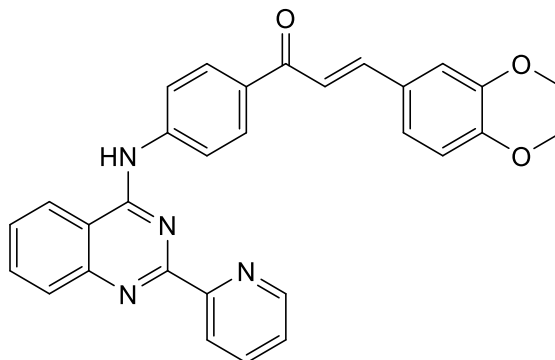
Summenformel:  $C_{31}H_{22}N_4O_2$

Molekulargewicht: 482,54 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.66 (s, 1H), 8.75 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.59 – 8.56 (m, 2H), 8.30 – 8.27 (m, 2H), 8.19 – 8.16 (m, 2H), 8.05 – 8.01 (m, 3H), 8.00 – 7.96 (m, 1H), 7.88 – 7.84 (m, 3H), 7.76 – 7.71 (m, 2H), 7.04 – 7.01 (m, 2H), 3.82 ppm (s, 3H).  **$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.68, 161.49, 158.37, 157.13, 143.67, 143.14, 134.61, 133.50, 132.83 (2C), 130.88 (2C), 129.55 (2C), 129.03 (2C), 127.60, 123.82, 121.98, 119.67 (2C), 118.77, 114.58 (2C), 114.18, 113.40, 55.55 ppm. Die Signale von vier C-Atomen fehlen.

LC-MS ( $m/z$ ): 483  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 89 %.

**220 (E)-3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-(4-((2-(pyridin-2-yl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)prop-2-en-1-on (STK-B45)**



**Herstellung:** Die Verbindung wurde aus 1-(4-((2-(Pyridin-2-yl)chinazolin-4-yl)amino)phenyl)ethan-1-on (**186**; 80 mg; 0,24 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (40 mg; 0,24 mmol) synthetisiert und als blassgelber Feststoff isoliert (Ausbeute: 23 %).

Summenformel:  $C_{30}H_{24}N_4O_3$

Molekulargewicht: 488,55 g/mol

**$^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 10.19 (s, 1H), 8.80 – 8.77 (m, 1H), 8.64 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 8.45 (dt,  $J$  = 7.9, 1.1 Hz, 1H), 8.33 – 8.22 (m, 4H), 8.00 – 7.96 (m, 1H), 7.93 – 7.87 (m, 3H), 7.70 (d,  $J$  = 15.4 Hz, 1H), 7.67 – 7.62 (m, 1H), 7.56 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 7.52 – 7.49 (m, 1H), 7.39 (dd,  $J$  = 8.6, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.82 ppm (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 187.31, 159.16, 158.43, 156.06, 151.26, 150.78, 149.63, 149.20, 143.58, 136.95 (2C), 133.16, 131.69, 129.61 (2C), 128.31, 127.94, 126.40, 124.63, 123.87, 123.63, 123.60, 121.17, 119.90, 118.46, 111.76, 110.99, 55.95, 55.75 ppm.

Das Signal für ein quartäres C-Atom fehlt.

LC-MS ( $m/z$ ): 489  $[M+H]^+$ . Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 94 %.



## 7.2 Biologische Testung

### 7.2.1 Materialien

#### 7.2.1.1 Chemikalien

| Chemikalien                            | Hersteller, Firma       | Artikelnummer |
|--|-------------------------|---------------|
| Calcein AM                             | Sigma                   | 17783         |
| Calciumchlorid-Dihydrat                | Merck                   | P4901         |
| Cyclosporin A                          | Sigma                   | C3662         |
| D-Glucose-Monohydrat                   | Merck                   | 1040740500    |
| Dimethylsulfoxid (DMSO)                | Sigma                   | 387520        |
| HEPES (freie Säure)                    | Applichem               | A3707         |
| Hoechst 33342                          | Sigma                   | B2261         |
| Kaliumchlorid                          | Merck                   | 104936        |
| Kaliumdihydrogenphosphat               | Applichem               | A3095         |
| Ko143                                  | Tocris                  | 3241          |
| Natriumchlorid                         | Merck                   | 106404        |
| Natriumhydrogencarbonat                | Merck                   | 106329        |
| Natriumhydroxid Maßlösung<br>(1 mol/l) | Grüssing                | 22195         |
| Magnesiumsulfat-Heptahydrat            | Applichem               | A4101         |
| Melsept SF                             | Braun                   | 18907         |
| Methanol                               | Sigma                   | 32213         |
| Thiazolylblau                          | Applichem               | A2231         |
| Pheophorbid A                          | Fontier Scientific Inc. | 15664296      |
| Salzsäure Maßlösung (1 mol/l)          | Grüssing                | 23204         |

## 7.2.1.2 Materialien für Zellkultur und Assays

| Materialien   | Hersteller, Firma        | Artikelnummer |
|---|--------------------------|---------------|
| 1,0-5,0 ml Bulk Pipettenspitzen   | Starlab                  | I1009-5000    |
| 1,5 ml Reaktionsgefäße  | Sarstedt                 | 72690001      |
| 2,0 ml MaxyClear Reaktionsgefäße  | Axygen scientific        | 12034598      |
| 96F schwarze SH Mikrotiterplatte, flacher Boden                           | Nunc                     | 237108        |
| 96-Well, klare PS Mikrotiterplatte, flacher Boden                         | Greiner bio-one          | 655101        |
| 96-Well Zellkulturplatten, flacher Boden mit Deckel, TC-behandelt, steril | Starlab                  | CC7682-7596   |
| CASYton Lösung  | Schärfe System           | 43001         |
| Cellstar Zentrifugenröhrchen PP 15 ml, steril                             | Greiner bio-one          | 188271        |
| Cellstar Zentrifugenröhrchen PP 50 ml, steril                             | Greiner bio-one          | 227261        |
| FACSClean   | Becton Dickinson         | 340345        |
| FACSFlow  | Becton Dickinson         | 342003        |
| FACSRinse   | Becton Dickinson         | 340346        |
| Fetales Kälberserum (FKS)   | Sigma                    | F7524         |
| Kryoröhrchen PP mit Schraubdeckel, steril                                 | Thermo Fisher Scientific | 50001012      |
| L-Glutamin 200 mmol/l, steril   | PAN Biotech GmbH         | P04-80100     |
| Membranfilter 0,2 µm, steril  | Whatman                  | 10462200      |
| Nährmedium D-MEM 5671   | Sigma                    | D5671         |
| Nährmedium RPMI-1640  | PAN Biotech GmbH         | P04-16500     |
| Norm-Ject 20 ml Spritze   | B. Braun                 | 4606205V      |
| Pasteurpipetten aus Glas (230 mm)   | Brand GmbH               | 747720        |
| Penicillin-Streptomycin Lösung  | PAN Biotech GmbH         | P06-07100     |
| Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)                                       | PAN Biotech GmbH         | P04-36500     |
| Serologische Pipette 10 ml, steril  | Sarstedt                 | 861254001     |
| Serologische Pipette 25 ml, steril  | Sarstedt                 | 861685001     |
| TipOne 1-200 µl gelbe Pipettenspitzen                                     | Starlab                  | S1111-1006    |
| TipOne 101-1000 µl blaue Pipettenspitzen                                  | Starlab                  | S1111-6001    |
| Trypsin/EDTA 0,05/0,02 % in PBS   | PAN Biotech GmbH         | P10-0231 SP   |
| Zellkulturflasche, 75 cm <sup>2</sup> , steril, Filterverschluß           | Greiner bio-one          | 658175        |
| Zellkulturflasche, 175 cm <sup>2</sup> , steril, Filterverschluß          | Greiner bio-one          | 660175        |

### 7.2.1.3 Gerätschaften

| Geräte                                     | Hersteller, Firma     | Seriennummer     |
|--|-----------------------|------------------|
| Accu-Jet Saugpumpe                         | Brand                 | 441938           |
| Avanti Zentrifuge J-25                     | Beckman               | JHY97G35         |
| Axiovert 25 Mikroskop                      | Zeiss                 | 66017            |
| CASY1 Model TT                             | Schärfe System        | SC1 TT           |
| CO <sub>2</sub> Inkubator                  | MMM Group             | -                |
| Elektronische Pipette (Accu-Jet Pro)       | Brand                 | 12H08317         |
| FACSCalibur                                | Becton Dickinson      | E3231            |
| FLUOstar Optima Mikropplatten-Reader       | BMG Lab Technologies  | 4131164, 4132279 |
| Laminar-Flow-Sterilbank (Antaros 48)       | Steril S.p.A.         | 10155/1996       |
| Multikanalpipette 15-300 µl (Xplorer plus) | Eppendorf             | N34056B          |
| pH-Meter 744                               | Metrohm               | 20506            |
| Pipette 0,5-10 µl                          | Finnpipette Labsystem | E02857           |
| Pipette 2-20 µl                            | Finnpipette Thermo    | V73084           |
| Pipette 5-50 µl                            | Finnpipette Thermo    | S04598           |
| Pipette 1-100 µl                           | Eppendorf             | 1107083          |
| Pipette 20-200 µl                          | Eppendorf             | 3967774          |
| Pipette 100-1000 µl                        | Brand                 | 704780           |
| Pipette 500-5000 µl                        | Brand                 | 704782           |
| POLARstar Galaxy Mikropplatten-Reader      | BMG Lab Technologies  | 4030639          |
| RH Magnetrührer                            | IKA Labortechnik      | 3061661          |
| Vakuumpumpe BVC21                          | Brand                 | 08E12592         |
| Vortex Genie 2                             | Scientific industries | G-560E           |
| Wasserbad Typ 1083                         | GFL                   | 11530203         |
| Zentrifuge                                 | Eppendorf             | 5417C            |

#### 7.2.1.4 Krebs-HEPES-Puffer (KHP)

Zur Durchführung zellbasierter Assays und zur Herstellung von Verdünnungsreihen der zu testenden Verbindungen wurde Krebs-HEPES-Puffer verwendet (Ausnahme: MTT Assay). Dazu erfolgte die Anfertigung einer 5-fach konzentrierten Lösung auf Vorrat. Die jeweiligen Mengenangaben sind in Tabelle 7.1 zusammengestellt. Die einzuwiegenden Substanzen wurde in einen 500 ml Messkolben überführt und mit destilliertem Wasser zunächst bis zu einem Volumen von 450 ml aufgefüllt. Nach anschließender Einstellung des pH-Wertes auf 7,4 mittels einer 1 mol/l Natriumhydroxid-Lösung wurde auf das Endvolumen von 500 ml aufgefüllt. Von der Pufferlösung wurden je 5 Aliquote à 100 ml bei -20 °C eingefroren.

*Tabelle 7.1: Herstellung einer 5-fach konzentrierten Lösung (500 ml)*

| Chemikalie              | Summenformel              | Molare Masse<br>[g/mol] | Masse [g] |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------|
| D-Glucose-Monohydrat    | $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ | 198,17                  | 5,796     |
| HEPES (freie Säure)     | $C_8H_{18}N_2O_4S$        | 238,31                  | 5,958     |
| Natriumchlorid          | NaCl                      | 58,44                   | 17,330    |
| Natriumhydrogencarbonat | $NaHCO_3$                 | 84,01                   | 0,882     |
| Kaliumchlorid           | KCl                       | 74,55                   | 0,876     |
| Kaliumhydrogenphosphat  | $KH_2PO_4$                | 136,09                  | 0,408     |

Um die Pufferlösung innerhalb der Assays einsetzen zu können, war die Verdünnung auf eine 1-fach konzentrierte Lösung erforderlich. Dazu wurden 100 ml des 5-fach konzentrierten KHP erneut in einen 500 ml Messkolben überführt, mit 650 µl Calciumchlorid-Lösung (1 mol/l; 1,47 g Calciumchloriddihydrat in 10 ml dest. Wasser) versetzt und mit destilliertem Wasser auf 400 ml aufgefüllt. Anschließend wurden 600 µl einer Magnesiumsulfatheptahydrat-Lösung (1 mol/l; 2,465 g Magnesiumheptahydrat auf 10 ml dest. Wasser) hinzugegeben und auf 500 ml Endvolumen aufgefüllt. Zum Aliquotieren der Lösung wurde der Puffer in 50 ml Zentrifugenröhrchen durch Sterilfiltration überführt und bei -20 °C gelagert.

## 7.2.2 Zellkultur

### 7.2.2.1 Zelllinien

Im Zuge der Erhebung biologischer Daten der synthetisierten Endstufen kamen verschiedene resistente, transfizierte oder Wildtyp Tumorzelllinien zum Einsatz. Diese sind im Folgenden zusammengestellt:

#### 1. MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen:

Die MDCK II Zelllinie (Madin-Darby Canine Kidney) wurde uns freundlicherweise von Prof. Dr. A. Schinkel (The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, Niederlande) für unsere biologische Testung zur Verfügung gestellt. Beide Zelllinien stammen aus der Niere von Hunden. Die MDCK II BCRP Zellen wurden durch Transfizieren des Wildtyps mit der humanen ABCG2 cDNA,

C-Terminal gekoppelt an die GFP-cDNA (Grün Fluoreszierendes Protein) gewonnen. Die GFP Fluoreszenz korreliert mit der relativen ABCG2-Expression. Zur Kultivierung der MDCK II Zellen wurde DMEM Medium (Dulbeccos's modified Eagle's medium) unter Zusatz von 10 % FKS (Fetales Kälberserum), 50 U/ml Penicillin G, 50 µg/ml Streptomycin und 2 mmol/l L-Glutamin verwendet.

#### 2. A2780adr Zellen:

Die Doxorubicin resistente humane Ovarialkarzinomzelllinie A2780adr fand Verwendung im Calcein AM Assay. Jene ABCB1 überexprimierende Zelllinie wurde über die European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC, Salisbury, Wiltshire, UK) bezogen. Zur Aufrechterhaltung des Resistenzgrades war ein regelmäßiges (ca. alle 10 Passagen) Stressen der Zellen mit 0,1 µmol/l Doxorubicin erforderlich. Kultiviert wurden die A2780adr Zellen in RPMI-1640 Medium, versetzt mit 10 % FKS, 50 U/ml Penicillin G und 50 µg/ml Streptomycin.

#### 3. H69AR Zellen:

Die ABCC1 überexprimierende kleinzellige Lungentumorzelllinie H69AR wurde über American Type Culture Collection (ATCC, CRL-11351) bezogen und ist ca. 50-fach resistenter gegenüber Doxorubicin, als die parenterale Zelllinie. Sie wurde aus den parenteralen NCI-H69 Zellen (ATCC HTB-119) durch Behandlung mit steigender Konzentration an Doxorubicin über einen Zeitraum von 14 Monaten gewonnen. Zur Kultivierung wurde das RPMI-1640 Nährmedium mit

20% FKS, 50 U/ml Penicillin G und 50 µg/ml Streptomycin verwendet. . Zur Aufrechterhaltung des Resistenzgrades war ein regelmäßiges (ca. alle 10 Passagen) Stressen der Zellen mit 0,1 µmol/l Doxorubicin erforderlich.

### 7.2.2.2 Inkulturnahme der Zellen

Alle Arbeiten mit den Zelllinien wurden unter aseptischen Bedingungen an einer Werkbank mit laminarem Luftstrom durchgeführt, um Kontaminationen jeglicher Art zu vermeiden. Die in flüssigem Stickstoff gelagerten Backups der Zelllinien wurden zum Auftauen ins Wasserbad bei 37 °C verbracht. Aufgrund des enthaltenen DMSO, welches sich bei längerer Verweildauer im aufgetauten Zustand zellschädigend auswirkt, bedurfte es einer guten Vorbereitung und zügiger Arbeitsweise. Die Zellsuspension (1 ml) wurde in ein 15 ml Zentrifugenröhrchen, welches bereits 9 ml frisches Nährmedium enthielt, überführt und 4 min bei 4 °C und 266 x *g* zentrifugiert. Durch Absaugen der überstehenden Lösung konnte das DMSO größtenteils entfernt werden. Das Pellet wurde in ca. 4 ml neuem Nährmedium resuspendiert und die Zellsuspension in eine T75 Zellkulturflasche mit 15-17 ml Nährmedium überführt. Anschließend erfolgte die Lagerung im Inkubator bei 37 °C und unter 5 % CO<sub>2</sub>-Atmosphäre. Nach ca. 1-2 Tagen, abhängig von der Konfluenz des Zellrasens, wurden die Zellen geerntet und passagiert.

### 7.2.2.3 Zellkultivierung

Bei Erreichen einer 80-90 %igen Konfluenz der Zellen innerhalb der Kulturflaschen (nach ca. 1-2 Tagen) wurden sie "geerntet". In der Vorbereitungsphase wurde zunächst das jeweilige Nährmedium, Trypsin und die phosphatgepufferte-Salzlösung (PBS) auf eine für die Zellen optimale Temperatur erwärmt. Dies geschah im Wasserbad für 10-15 min bei 37 °C. Anschließend erfolgte die Entfernung des alten Nährmediums aus den Zellkulturflaschen mittels einer Vakuumabsaugpumpe und ein dreimaliges vorsichtiges Waschen mit je 4 ml PBS. Dadurch konnten Rückstände vom Medium sowie tote Zellen entfernt werden. Anschließend erfolgte die Zugabe von 4 ml Trypsin/EDTA Lösung zum Ablösen der Zellen vom Boden der Zellkulturflasche. Um den Vorgang zu begünstigen, wurden die Flaschen je nach Zelllinie für 5-15 min im Inkubator bei 37 °C gelagert. Durch sanftes Klopfen an der Längsseite der Flaschen wurde der Vorgang unterstützt. Nachdem mikroskopisch der Ablösezustand überprüft wurde und sich die Zellen nahezu vollständig von der Oberfläche abgetrennt hatten, wurden 6 ml neues Medium hinzugefügt. Dies führte zur Inaktivierung des Trypsins. Die so erhaltenen 10 ml Zellsuspension wurden in ein geeignetes Gefäß überführt und bei 4 min / 4 °C und 266 x *g* zentrifugiert. Nach anschließender

Entfernung des Überstandes erfolgte die Resuspension der Zellen in 4-5 ml frischem Nährmedium, abhängig von der Größe des Pellets. Letztlich wurde die gewünschte Zellzahl in eine neue Zellkulturflasche überführt und mit etwa 15-18 ml Medium (T75 Flaschen) aufgefüllt, so dass die Zellen ca. 48 h wachsen konnten bis zum erneuten Passagieren. Die jeweiligen Nährmedien waren mit Phenylrot als Indikator versetzt, welcher von Rot nach Gelb umschlägt sobald sich der pH-Wert im sauren Milieu befindet. Dies verweist auf den erhöhten Verbrauch der Nährstoffe und damit auf ein erhöhtes Wachstum. Daher wurde der Zustand des Nährmediums täglich überprüft, um es gegebenenfalls zu erneuern. Im Falle der Durchführung eines zellbasier-ten Assays erfolgte mit der übrigen Zellsuspension die Zellzählung am CASY1 TT Modell.

#### **7.2.2.4 Kryokonservierung der Zellen**

Wie bereits zuvor beschrieben (Kapitel 7.2.2.2) erfolgte zunächst das Ernten der Zellen nach 80-90 % Konfluenz des Zellrasens und die Zellzählung. Nachdem die gewünschte Zellzahl pro 900 µl Lösung ermittelt wurde, erfolgten erneut ein Zentrifugationsschritt und die Entfernung des Mediums. Anschließend wurde das so erhaltene Zellpellet in dem entsprechenden Volumen neuen Nährmediums resuspendiert. Von dieser Zellsuspension wurden 900 µl in die bereits beschrifteten Kryoröhrchen überführt. Abschließend erfolgten die Zugabe von 100 µl DMSO sowie ein vorsichtiger Mischvorgang. Der Zusatz von 10 % DMSO verhindert schädigende Kristallbildung beim Einfrieren. So zügig wie möglich wurden die Zellen bei -80 °C eingefroren und erst nach einem Tag im Stickstofftank dauerhaft eingelagert.

#### **7.2.2.5 Zellzahlbestimmung mittels CASY1 Modell TT**

Die CASY Technologie der Firma Schärfe System ist ein Verfahren der Widerstandsmessung bzw. die elektrische Erfassung der Zellen beim Durchtritt durch die Messpore. Mittels der eigens entwickelten Pulsflächenanalyse wird eine digitale Signalauswertung mit einer Million Messpunkten pro Sekunde möglich. Zur Bestimmung wurden 20 µl der zuvor präparierten Zellsuspension in ein Röhrchen mit 10 ml steril filtrierter CASYton-Lösung pipettiert und durch leichtes Schwenken darin verteilt. Diese Lösung wurde über eine Kapillare definierten Durchmessers (150 µm) und Länge bei konstanter Strömungsgeschwindigkeit transportiert. Durch Anlegen einer Spannung über zwei Platin-Elektroden war es möglich den Widerstand zu messen. Lebende Zellen, welche eine intakte Zellmembran aufweisen, können den elektrischen Strom nicht leiten, was zu einer Erhöhung des Widerstandes proportional zum Volumen der Zelle führte. Dabei entspricht

die Anzahl der gemessenen Signale der Zellzahl. Toten Zellen obliegt es nicht den elektrischen Strom auszuschließen, und sie werden mit dem Volumen ihres Zellkerns erfasst.

Auf diese Weise ließ sich zum einen die Zelldichte und Größenverteilung einer Zellkultur bestimmen und zum anderen zwischen lebenden und toten Zellen differenzieren. Für die Messung wurde ein gewünschter Bereich für den Durchmesser der Zellen definiert. Die untere Grenze des Messbereiches wurde auf 8  $\mu\text{m}$  definiert, um tote Zellen nicht zu berücksichtigen und die obere Grenze auf 40  $\mu\text{m}$ , um Zellagglomerate auszuschließen.

### 7.2.3 Durchführung der Assays

#### 7.2.3.1 Pheophorbid A Assay

Der Pheophorbid A Assay wurde zur Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mittels MDCK II BCRP Zellen bis zu einer finalen Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  des Modulators herangezogen. Die Durchführung des Assays erfolgte wie bereits zuvor beschrieben [212]. Dazu erfolgte zunächst die Anfertigung verschiedener Konzentrationen der zu testenden Substanz, welche in aufsteigender Reihenfolge in einem Volumen von 20  $\mu\text{l}$  auf eine F-förmige (mit flachem Boden) klare 96 Mikrotiterplatte aufgetragen wurden. Als Kontrolle diente KHP, welcher ebenfalls in einem Volumen von 20  $\mu\text{l}$  in das jeweils erste Well einer Reihe pipettiert wurde. Die vorbereiteten Platten wurden zunächst im Kühlschrank gelagert.

Anschließend erfolgt das Präparieren der Zellen nach Kapitel 7.2.2.3 und die Zellzahlbestimmung (Kapitel 7.2.2.5). Pro Well wurden ca. 45000 Zellen benötigt. Das entsprechende Volumen der Zellsuspension wurde in ein 2 ml Eppendorfcap überführt und zentrifugiert (7840 x g, Shortspin). Nach Entfernung des Überstandes wurde das Zellpellet in 1 ml KHP resuspendiert und erneut zentrifugiert. Insgesamt wurde dieser Waschschrift dreimal wiederholt, bevor die Suspension (1 ml) in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen überführt und mit 17 ml KHP (pro Platte) ergänzt wurde. Durch leichtes Schwenken des Gefäßes erhielt man eine homogene Suspension, welche anschließend in eine Ausplattierschale gegeben wurde. Mittels einer Multikanalpipette (12-Kanal) erfolgte das Übertragen der Zellsuspension in einem Volumen von 160  $\mu\text{l}$  pro Well auf die bereits vorbereitete Mikrotiterplatte nach dem in Abbildung 7.1 dargestellten Pipettierschema. Im Anschluss wurde die Platte für 30 min bei 37 °C und 5 %  $\text{CO}_2$ -Atmosphäre im Inkubator gelagert. Nach Beendigung der Präinkubation wurden 20  $\mu\text{l}$  einer 5  $\mu\text{mol/l}$  Pheophorbid A Lösung pro Well hinzugefügt. Jene Farbstofflösung wurde jeweils frisch hergestellt aus 15  $\mu\text{l}$  einer 1 mmol/l Stammlösung und 2985  $\mu\text{l}$  KHP und lichtgeschützt aufbewahrt. Die finale



Endkonzentration von Pheophorbid A lag bei 0,5  $\mu\text{mol/l}$  pro Well bei einem Gesamtvolumen von 200  $\mu\text{l}$  pro Well. Bis zum Erreichen des Steady-States wurden die Platten für weitere 2 h im Inkubator aufbewahrt. Da sich die Zellen innerhalb dieses Zeitraums am Boden absetzten, wurde die Lösung vor der Messung durch etwa 50-maliges Auf-und Abpipettieren vorsichtig resuspendiert. Die Vermessung der Fluoreszenz erfolgte am FACS-Calibur bei 488 nm Anregungswellenlänge sowie 670 nm und höhere Emissionswellenlänge.

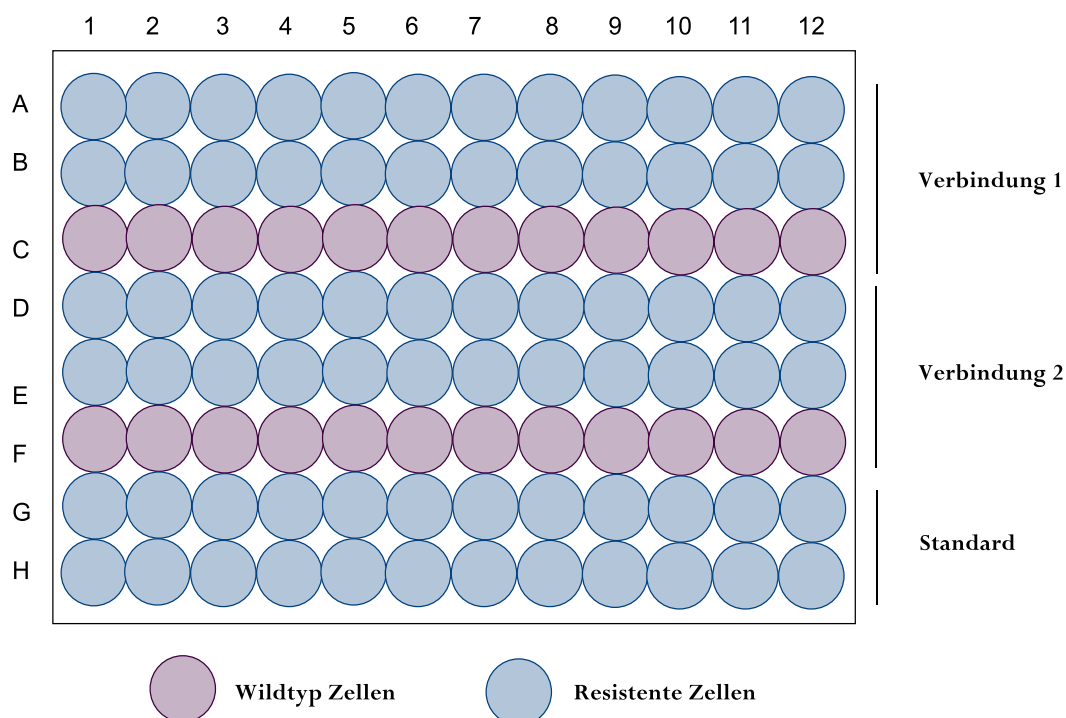


Abbildung 7.1: Standard Pipettierschema einer 96 Well Mikrotiterplatte für den Pheophorbid A und auch Hoechst 33342 Assay.

### 7.2.3.2 Hoechst 33342 Assay

Der Hoechst 33342 Assay wurde ebenfalls zur Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mittels MDCK II BCRP Zellen herangezogen und wie bereits beschrieben mit kleineren Modifikationen durchgeführt [184,247,248]. Da Hoechst 33342 eine andere Bindestelle als Pheophorbid A besitzt, konnte durch den Vergleich beider Assays auf eine eventuell vorliegende Substratspezifität geschlossen werden. Die Vorbereitung der Platten sowie das Ernten der Zellen entsprechen den Schritten des Pheophorbid A Assays. Pro Well wurden 30000 Zellen benötigt, welche in einer schwarzen 96 Mikrotiterplatte ausgesät wurden. Das entsprechende Volumen an Zellsuspension wurde nach Überführung in ein 2 ml Eppendorfcap zentrifugiert und dreimal mit KPH gewaschen, um Rückstände des Mediums zu entfernen. Die 1 ml Zellsuspension in KHP

wurde mit 17 ml KHP ergänzt und in einem Volumen von 160 µl mittels einer Multikanalpipette auf die Platte aufgebracht. Nach einer 30-minütigen Präinkubationsphase bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Atmosphäre wurden 20 µl einer 10 µmol/l Hoechst 33342 Lösung pro Well addiert. Die Herstellung der Farbstofflösung erfolgte aus einer 10 mmol/l Stammlösung von Hoechst 33342 in DMSO. Sie wurde jeweils frisch hergestellt und lichtgeschützt aufbewahrt. Von jener Stammlösung wurden 10 µl mit 990 µl KHP versetzt (0,1 mmol/l Lösung) und aus dieser wiederum 450 µl entnommen und mit 4050 µl KHP auf eine Konzentration von 10 µmol/l verdünnt. Die finale Endkonzentration von Hoechst 33342 betrug 1 µmol/l pro Well bei einem Gesamtvolumen von 200 µl. Die Fluoreszenz wurde unmittelbar in konstanten Intervallen (60 s) bis zu 120 min in temperierten (37 °C) Mikroplattenreadern bei einer Exzitationswellenlänge von 355 nm und einer Emissionswellenlänge von 460 nm vermessen. Die festgelegten Parameter sind in Tabelle 7.2 zusammengefasst.

*Tabelle 7.2: Einstellung der Parameter an den Mikroplattenreadern für den Hoechst 33342 Assay.*

| Parameter                          | Einstellung |
|------------------------------------|-------------|
| Scan Modus                         | Platte      |
| Temperatur                         | 37 °C       |
| Anzahl der Zyklen                  | 120         |
| Zyklusdauer                        | 60 s        |
| Anzahl Lichtblitze                 | 10/s        |
| Intervallzeit zwischen zwei Reihen | 0,2 s       |
| Ausrichtung der Vermessung         | horizontal  |
| Exzitationswellenlänge             | 355 nm      |
| Emissionswellenlänge               | 460 nm      |
| Required value                     | 20 %        |
| Gain (FLUOstar Reader)             | 1500        |
| Gain (POLARstar Reader)            | 50          |

Zur Auswertung des Hoechst 33342 Assays wurden zunächst die Mittelwerte der gemessenen Fluoreszenzwerte im Steady-State (von Minute 100 bis 109) für jede Konzentration ermittelt und diese zum Erstellen der Konzentrations-Wirkungskurve mit Hilfe nichtlinearer Regression (4 Parameter logistische Gleichung) in GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., Version 5.0, San Diego, CA, USA) übertragen. Aus diesen ließ sich der IC<sub>50</sub> einer Verbindung berechnen.

### 7.2.3.3 Calcein AM Assay

Zur Überprüfung der synthetisierten Verbindungen auf Selektivität gegenüber ABCG2 wurde der Calcein AM Assay mittels ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen und ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen herangezogen und wie bereits beschrieben mit kleineren Modifikationen durchgeführt [200,249]. Zunächst erfolgte für alle Endstufen ein sogenanntes Screening bei 10 µmol/l fixierter Konzentration, welche vor Zugabe der Zellen auspipettiert wurden. Zeigten die Verbindungen signifikante Affinität (> 25 %) gegenüber ABCB1 oder ABCC1, wurden die Verbindungen mit mehreren Konzentrationen eingehender untersucht und der IC<sub>50</sub> Wert bestimmt. Wie bereits zuvor für den Pheophorbid A Assay beschrieben, wurden die jeweiligen Zellen nach Erreichen einer 80-90 %igen Konfluenz geerntet und die Zellzahl bestimmt. Anschließend wurden 30000 Zellen pro Well in einem Volumen von 160 µl in eine klare 96-Mikrotiterplatte überführt und für 30 min bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Atmosphäre im Inkubator gelagert. Im Anschluss an die Präinkubation erfolgte die Zugabe von 20 µl einer Calcein AM Lösung, welche frisch aus 15 µl der 1 mmol/l Calcein AM Stammlösung verdünnt mit 4785 µl KHP hergestellt wurde (für 2 Platten). Das Gesamtvolumen pro Well betrug 200 µl. Im Folgenden wurden die Platten in einem auf 37 °C temperierten Fluoreszenzreader über einen Zeitraum von 60 min bei einer Exzitationswellenlänge von 485 nm und einer Emissionswellenlänge von 520 nm vermessen. Die einzustellenden Testparameter am Mikroplattenreader sind in Tabelle 7.3 zusammengetragen.

*Tabelle 7.3: Testparameter zur Einstellung am Mikroplattenreader im Calcein Assay.*

| Parameter                          | Einstellung |
|------------------------------------|-------------|
| Scan Modus                         | Platte      |
| Temperatur                         | 37 °C       |
| Anzahl der Zyklen                  | 60          |
| Zyklusdauer                        | 60 s        |
| Anzahl Lichtblitze                 | 10/s        |
| Intervallzeit zwischen zwei Reihen | 0,2 s       |
| Ausrichtung der Vermessung         | horizontal  |
| Exzitationswellenlänge             | 485 nm      |
| Emissionswellenlänge               | 520 nm      |

| Parameter               | Einstellung |
|-------------------------|-------------|
| Required value          | 20 %        |
| Gain (FLUOstar Reader)  | 1450        |
| Gain (POLARstar Reader) | 15          |

Die Datenanalyse erfolgte zunächst mit Hilfe von Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA 98052-6399, USA), in dem ein Auswertungssheet erstellt wurde. Aus den gemessenen Fluoreszenzwerten (Minute 10-29) wurde die Steigung des initial linearen Abschnitts der Fluoreszenz-Zeit-Kurve ermittelt. Der Wert der Steigung von KHP (Kontrolle) wurde von dem ermittelten Wert der Substanz subtrahiert. Der so erhaltene Wert bei 10  $\mu\text{mol/l}$  wurde mit dem entsprechenden Wert des Standards (Cyclosporin A) ins Verhältnis gesetzt und so die Inhibition in Prozent kalkuliert. Zur Bestimmung der  $\text{IC}_{50}$ -Daten wurden die Werte der Steigung in GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., Version 5.0, San Diego, CA, USA) importiert und gegen die jeweiligen logarithmischen Konzentrationen aufgetragen. Basierend auf der 4-Parameter-logistischen Gleichung wurde durch nichtlineare Regression eine Dosis-Wirkungskurve generiert und daraus der  $\text{IC}_{50}$ -Wert bestimmt.

#### 7.2.3.4 MTT Assay

Der MTT Assay wurde zur Bestimmung der intrinsischen Zytotoxizität ausgewählter Verbindungen herangezogen und wie bereits beschrieben mit kleineren Modifikationen durchgeführt [167,181]. Die MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen wurden, wie zuvor beschrieben, vorbereitet und die Zellzahl bestimmt. Alle Arbeiten, auch die Anfertigung der Verdünnungsreihen, wurden unter aseptischen Bedingungen an einer Werkbank mit laminarem Luftstrom durchgeführt. Pro Well wurden 3000 Zellen in einem Volumen von 180  $\mu\text{l}$  mittels einer Multikanalpipette auf eine klare und sterile 96-Well Zellkulturplatte aufgebracht. Das verwendete Pipettierschema ist in Abbildung 7.2 verdeutlicht. Dazu wurden etwa 300000 Zellen in einem Volumen von 18 ml Medium resuspendiert. Ebenfalls erfolgte die Anfertigung der Verdünnungsreihen mit Nährmedium anstelle von KHP, da die Zellen über einen Zeitraum von 72 h inkubiert wurden. Die Platten wurden zunächst über einen Zeitraum von 4-6 h im Inkubator bei 37 °C und 5 %  $\text{CO}_2$ -Atmosphäre gelagert, um das Anheften der Zellen am Boden der Zellkulturplatte zu gewährleisten. Anschließend erfolgte die Zugabe von 20  $\mu\text{l}$  der zu untersuchenden Verbindung in unterschiedlichen Konzentrationen, was in einem Gesamtvolumen von 200  $\mu\text{l}$  resultierte. In der ersten Spalte der Platte wurde Medium (Positivkontrolle) und in der letzten DMSO (Negativkontrolle)

ohne Substanz pipettiert (Abbildung 7.2). Des Weiteren wurden in den Aussparungen der Platte insgesamt 6 ml steriles PBS als Verdunstungsschutz eingebracht. Anschließend wurden die Zellkulturplatten bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub>-Atmosphäre für 72 h inkubiert. Nach erfolgter Inkubationsphase wurden die Platten mit dem Farbstoff MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) behandelt. Dazu erfolgte die Herstellung einer Lösung von 5 mg/ml MTT in sterilem PBS im entsprechend benötigten Volumen. Pro Well wurden 40 µl dieser Lösung unter Verwendung einer Multikanalpipette auspipettiert und die Zellkulturplatten erneut für 1 h inkubiert. Die Bildung des blau-violetten Formazans konnte mikroskopisch überprüft werden. Anschließend wurde das Medium und die überschüssige MTT-Lösung durch mehrmaliges Ausklopfen auf Zellulose entfernt und die Zellen mit 100 µl DMSO pro Well versetzt, um die Zellen zu lysieren. Die Intensität des farbigen Formazans wurde spektrophotometrisch durch Vermessung der Absorption bei 544 nm mit einer Hintergrundkorrektur bei 710 nm am BMG POLARstar Mikropplattenreader ermittelt. Durch Normalisierung der gemessenen Absorptionswerte konnte die Zellvitalität in Prozent bezogen auf die Positivkontrolle (Medium) ermittelt werden. Die GI<sub>50</sub>-Werte wurden mittels nichtlinearer Regression unter Voraussetzung einer sigmoidalen (4-Parameter-logistischen Gleichung) Konzentrations-Effekt Kurve in GraphPad Prism bestimmt.



Abbildung 7.2: Pipettierschema für 96-Well Mikrotiterplatten im MTT Zytotoxizitäts Assay.

### 7.2.4 Berechnung von $IC_{50}$ und $GI_{50}$ mittels GraphPad Prism 5.0

In Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedenste zellbasierte Assays durchgeführt (Pheophorbid A, Hoechst 33342, Calcein AM und MTT Assay) und die ermittelten Werte als  $IC_{50}$  oder  $GI_{50} \pm SD$  angegeben. Zur statistischen Auswertung der Daten wurde die Software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., Version 5.0, San Diego, CA, USA) herangezogen. Die gemessenen Fluoreszenz- bzw. Absorptionswerte (MTT) wurden in das Programm importiert und mittels nichtlinearer Regression mit der 4-Parameter-logistischen Gleichung (variabler Slope) die Dosis-Effekt Kurven generiert. Für Inhibitoren, welche nicht die maximale Response im Vergleich zum Standard aufwiesen und bei denen sich kein Plateau einstellte, wurde der Topwert auf den Standard fixiert. Die Assays wurden mindestens als Triplikate durchgeführt und sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD) angegeben.

Die 4-Parameter-logistische Gleichung zum Erstellen der Dosis-Effekt Kurven lautet wie folgt:

$$Y = Bottom + (Top - Bottom) / (1 + 10^{((\log IC_{50} - \log X) * Hillslope)})$$

**Bottom:** Effekt ohne Inhibitor (Basislinie), **Top:** maximal erreichter Fluoreszenzanstieg, **Hillslope:** Steigung im Wendepunkt der Kurve,  **$IC_{50}$ :** halbmaximaler Effekt der Verbindung, **X:** Konzentration der Verbindung, **Y:** Effekt.

## Literaturverzeichnis

- [1] Stewart, B. W. (Ed.) World Cancer Report 2014, *IARC Press*, Lyon, **2014**.
- [2] Gottesman, M. M; Fojo, T; Bates, S. E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, 2, 48–58.
- [3] Endicott, J. A; Ling, V. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Annu. Rev. Biochem.* **1989**, 58, 137–171.
- [4] Cole, S; Bhardwaj, G; Gerlach, J; Mackie, J; Grant, C; Almquist, K; Stewart, A; Kurz, E; Duncan, A; Deeley, R. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* **1992**, 258, 1650–1654.
- [5] Doyle, L. A; Yang, W; Abruzzo, L. V; Krogmann, T; Gao, Y; Rishi, A. K; Ross, D. D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, 95, 15665–15670.
- [6] Bates, S. E. Solving the problem of multidrug resistance: ABC Transporters in clinical oncology, in: I.B. Holland (Ed.), ABC proteins: From bacteria to man, 1st ed., *Academic Press*, Amsterdam, Boston, **2003**, 359–391.
- [7] Gillet, J.-P; Efferth, T; Remacle, J. Chemotherapy-induced resistance by ATP-binding cassette transporter genes. *Biochim. Biophys. Acta.* **2007**, 1775, 237–262.
- [8] Ross, D. D; Nakanishi, T. Impact of breast cancer resistance protein on cancer treatment outcomes. *Methods Mol. Biol.* **2010**, 596, 251–290.
- [9] Fletcher, J. I; Haber, M; Henderson, M. J; Norris, M. D. ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps. *Nat. Rev. Cancer* **2010**, 10, 147–156.
- [10] Higgins, C. F. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu. Rev. Cell Biol.* **1992**, 8, 67–113.
- [11] Holland, I. B; Cole, S. P. C; Kuchler, K; Higgins, C. F. ABC Proteins: From Bacteria to Man, 1st ed., *Academic Press*, London, UK, **2003**.
- [12] Dassa, E; Bouige, P. The ABC of ABCs: A phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms. *Res. Microbiol.* **2001**, 152, 211–229.
- [13] Wu, C.-P; Hsieh, C.-H; Wu, Y.-S. The emergence of drug transporter-mediated multidrug resistance to cancer chemotherapy. *Mol. Pharm.* **2011**, 8, 1996–2011.
- [14] Linton, K. J. Structure and function of ABC transporters. *Physiology (Bethesda)* **2007**, 22, 122–130.
- [15] Seeger, M. A; van Veen, H. W. Molecular basis of multidrug transport by ABC transporters. *Biochim. Biophys. Acta.* **2009**, 1794, 725–737.
- [16] Higgins, C. F; Linton, K. J. The ATP switch model for ABC transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, 11, 918–926.

- [17] Senior, A. E; al-Shawi, M. K; Urbatsch, I. L. The catalytic cycle of P-glycoprotein. *FEBS Lett.* **1995**, 377, 285–289.
- [18] Sauna, Z. E; Kim, I.-W; Nandigama, K; Kopp, S; Chiba, P; Ambudkar, S. V. Catalytic cycle of ATP hydrolysis by P-glycoprotein: evidence for formation of the E.S reaction intermediate with ATP-gamma-S, a nonhydrolyzable analogue of ATP. *Biochem.* **2007**, 46, 13787–13799.
- [19] Siarheyeva, A; Liu, R; Sharom, F. J. Characterization of an asymmetric occluded state of P-glycoprotein with two bound nucleotides: implications for catalysis. *J. Biol. Chem.* **2010**, 285, 7575–7586.
- [20] Callaghan, R; Ford, R. C; Kerr, I. D. The translocation mechanism of P-glycoprotein. *FEBS Lett.* **2006**, 580, 1056–1063.
- [21] Al-Shawi, M. K; Polar, M. K; Omote, H; Figler, R. A. Transition state analysis of the coupling of drug transport to ATP hydrolysis by P-glycoprotein. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 52629–52640.
- [22] Huls, M; Russel, F. G. M; Masereeuw, R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, 328, 3–9.
- [23] Higgins, C. F. ABC transporters: Physiology, structure and mechanism – an overview. *Res. Microbiol.* **2001**, 152, 205–210.
- [24] Holland, I. B. ABC transporters, mechanisms and biology: an overview. *Essays Biochem.* **2011**, 50, 1–17.
- [25] Cordon-Cardo, C; O'Brien, J. P; Boccia, J; Casals, D; Bertino, J. R; Melamed, M. R. Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *J. Histochem. Cytochem.* **1990**, 38, 1277–1287.
- [26] Maliepaard, M; Scheffer, G. L; Faneyte, I. F; van Gastelen, M. A; Pijnenborg, A. C; Schinkel, A. H; van De Vijver, M J; Scheper, R. J; Schellens, J. H. Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. *Cancer Res.* **2001**, 61, 3458–3464.
- [27] Sarkadi, B; Homolya, L; Szakacs, G; Varadi, A. Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoimmunity defense system. *Physiol. Rev.* **2006**, 86, 1179–1236.
- [28] Dean, M; Annilo, T. Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2005**, 6, 123–142.
- [29] Schinkel, A. H; Jonker, J. W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2003**, 55, 3–29.
- [30] Glavinas, H; Krajcsi, P; Cserepes, J; Sarkadi, B. The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity. *Curr. Drug Deliv.* **2004**, 1, 27–42.
- [31] Szakacs, G; Varadi, A; Ozvegy-Laczka, C; Sarkadi, B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug discovery today* **2008**, 13, 379–393.
- [32] Juliano, R. L; Ling, V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta.* **1976**, 455, 152–162.



- [33] Ueda, K; Cardarelli, C; Gottesman, M. M; Pastan, I. Expression of a full-length cDNA for the human "MDR1" gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1987**, *84*, 3004–3008.
- [34] Lockhart, A. C; Tirona, R. G; Kim, R. B. Pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters in cancer and chemotherapy. *Mol. Cancer Ther.* **2003**, *2*, 685–698.
- [35] Sauna, Z. E; Smith, M. M; Muller, M; Kerr, K. M; Ambudkar, S. V. The mechanism of action of multidrug-resistance-linked P-glycoprotein. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2001**, *33*, 481–491.
- [36] Assaraf, Y. G; Borgnia, M. J. Differential reversal of lipophilic antifolate resistance in mammalian cells with modulators of the multidrug resistance phenotype. *Anticancer Drugs* **1993**, *4*, 395–406.
- [37] Schinkel, A. H; Jonker, J. W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: An overview. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2003**, *55*, 3–29.
- [38] Sodani, K; Patel, A; Kathawala, R. J; Chen, Z.-S. Multidrug resistance associated proteins in multidrug resistance. *Chin. J. Cancer* **2012**, *31*, 58–72.
- [39] Ambudkar, S. V; Dey, S; Hrycyna, C. A; Ramachandra, M; Pastan, I; Gottesman, M. M. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, *39*, 361–398.
- [40] Srinivas, E; Murthy, J; Rao, A; Sastry, G. Recent Advances in Molecular Modeling and Medicinal Chemistry Aspects of Phospho-Glycoprotein. *Curr. Drug Metab.* **2006**, *7*, 205–217.
- [41] Schinkel, A. H; Arceci, R. J; Smit, J. J; Wagenaar, E; Baas, F; Dolle, M; Tsuruo, T; Mechetner, E. B; Roninson, I. B; Borst, P. Binding properties of monoclonal antibodies recognizing external epitopes of the human MDR1 P-glycoprotein. *Int. J. Cancer* **1993**, *55*, 478–484.
- [42] Gripar, J. J; Ramachandra, M; Hrycyna, C. A; Dey, S; Ambudkar, S. V. Functional characterization of glycosylation-deficient human P-glycoprotein using a vaccinia virus expression system. *J. Membr. Biol.* **2000**, *173*, 203–214.
- [43] Rosenberg, M. F; Callaghan, R; Modok, S; Higgins, C. F; Ford, R. C. Three-dimensional structure of P-glycoprotein: the transmembrane regions adopt an asymmetric configuration in the nucleotide-bound state. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 2857–2862.
- [44] Aller, S. G; Yu, J; Ward, A; Weng, Y; Chittaboina, S; Zhuo, R; Harrell, P. M; Trinh, Y. T; Zhang, Q; Urbatsch, I. L; Chang, G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science* **2009**, *323*, 1718–1722.
- [45] Jin, M. S; Oldham, M. L; Zhang, Q; Chen, J. Crystal structure of the multidrug transporter P-glycoprotein from *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **2012**, *490*, 566–569.
- [46] Omote, H; Al-Shawi, M. K. Interaction of transported drugs with the lipid bilayer and P-glycoprotein through a solvation exchange mechanism. *Biophys. J.* **2006**, *90*, 4046–4059.
- [47] Higgins, C. F; Gottesman, M. M. Is the multidrug transporter a flippase? *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17*, 18–21.
- [48] Sharom, F. J. Complex Interplay between the P-Glycoprotein Multidrug Efflux Pump and the Membrane: Its Role in Modulating Protein Function. *Front. Oncol.* **2014**, *4*, 41.
- [49] Sharom, F. J. The P-glycoprotein multidrug transporter. *Essays Biochem.* **2011**, *50*, 161–178.

- [50] Kartner, N; Shales, M; Riordan, J. R; Ling, V. Daunorubicin-resistant Chinese hamster ovary cells expressing multidrug resistance and a cell-surface P-glycoprotein. *Cancer Res.* **1983**, *43*, 4413–4419.
- [51] Huisman, M. T; Smit, J. W; Schinkel, A. H. Significance of P-glycoprotein for the pharmacology and clinical use of HIV protease inhibitors. *AIDS* **2000**, *14*, 237–242.
- [52] Eckford, P. D. W; Sharom, F. J. ABC efflux pump-based resistance to chemotherapy drugs. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2989–3011.
- [53] Tanigawara, Y; Okamura, N; Hirai, M; Yasuhara, M; Ueda, K; Kioka, N; Komano, T; Hori, R. Transport of digoxin by human P-glycoprotein expressed in a porcine kidney epithelial cell line (LLC-PK1). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, *263*, 840–845.
- [54] Ueda, K; Okamura, N; Hirai, M; Tanigawara, Y; Saeki, T; Kioka, N; Komano, T; Hori, R. Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 24248–24252.
- [55] Shukla, S; Wu, C.-P; Ambudkar, S. V. Development of inhibitors of ATP-binding cassette drug transporters: present status and challenges. *Expert Opin Drug Metab. Toxicol* **2008**, *4*, 205–223.
- [56] Tsuruo, T; Iida, H; Tsukagoshi, S; Sakurai, Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res.* **1981**, *41*, 1967–1972.
- [57] Tsuruo, T; Iida, H; Tsukagoshi, S; Sakurai, Y. Increased accumulation of vincristine and adriamycin in drug-resistant P388 tumor cells following incubation with calcium antagonists and calmodulin inhibitors. *Cancer Res.* **1982**, *42*, 4730–4733.
- [58] Chao, N. J; Aihara, M; Blume, K. G; Sikic, B. I. Modulation of etoposide (VP-16) cytotoxicity by verapamil or cyclosporine in multidrug-resistant human leukemic cell lines and normal bone marrow. *Exp. Hematol.* **1990**, *18*, 1193–1198.
- [59] Spoelstra, E. C; Dekker, H; Schuurhuis, G. J; Broxterman, H. J; Lankelma, J. P-glycoprotein drug efflux pump involved in the mechanisms of intrinsic drug resistance in various colon cancer cell lines. Evidence for a saturation of active daunorubicin transport. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *41*, 349–359.
- [60] Chan, H. S; DeBoer, G; Thiessen, J. J; Budning, A; Kingston, J. E; O'Brien, J. M; Koren, G; Giesbrecht, E; Haddad, G; Verjee, Z; Hungerford, J. L; Ling, V; Gallie, B. L. Combining cyclosporin with chemotherapy controls intraocular retinoblastoma without requiring radiation. *Clin. Cancer Res.* **1996**, *2*, 1499–1508.
- [61] Ferry, D. R; Traunecker, H; Kerr, D. J. Clinical trials of P-glycoprotein reversal in solid tumours. *Eur. J. Cancer* **1996**, *32A*, 1070–1081.
- [62] Krishna, R; Mayer, L. D. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *11*, 265–283.
- [63] Pirker, R; Keilhauer, G; Raschack, M; Lechner, C; Ludwig, H. Reversal of multi-drug resistance in human KB cell lines by structural analogs of verapamil. *Int. J. Cancer* **1990**, *45*, 916–919.
- [64] Pirker, R; FitzGerald, D. J; Raschack, M; Frank, Z; Willingham, M. C; Pastan, I. Enhancement of the activity of immunotoxins by analogues of verapamil. *Cancer Res.* **1989**, *49*, 4791–4795.

- [65] Boesch, D; Gaveriaux, C; Jachez, B; Pourtier-Manzanedo, A; Bollinger, P; Loor, F. In vivo circumvention of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance of tumor cells with SDZ PSC 833. *Cancer Res.* **1991**, *51*, 4226–4233.
- [66] Jonsson, B; Nilsson, K; Nygren, P; Larsson, R. SDZ PSC-833--a novel potent in vitro chemosensitizer in multiple myeloma. *Anticancer Drugs* **1992**, *3*, 641–646.
- [67] Lum, B. L; Gosland, M. P. MDR expression in normal tissues. Pharmacologic implications for the clinical use of P-glycoprotein inhibitors. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* **1995**, *9*, 319–336.
- [68] Hyafil, F; Vergely, C; Du Vignaud, P; Grand-Perret, T. In vitro and in vivo reversal of multidrug resistance by GF120918, an acridonecarboxamide derivative. *Cancer Res.* **1993**, *53*, 4595–4602.
- [69] Maliepaard, M; van Gastelen, M. A; Tohgo, A; Hausheer, F. H; van Waardenburg, R. C; Jong, L. A. de; Pluim, D; Beijnen, J. H; Schellens, J. H. Circumvention of breast cancer resistance protein (BCRP)-mediated resistance to camptothecins in vitro using non-substrate drugs or the BCRP inhibitor GF120918. *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 935–941.
- [70] Kannan, P; Telu, S; Shukla, S; Ambudkar, S. V; Pike, V. W; Halldin, C; Gottesman, M. M; Innis, R. B; Hall, M. D. The "specific" P-glycoprotein inhibitor Tariquidar is also a substrate and an inhibitor for breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *ACS Chem. Neurosci.* **2011**, *2*, 82–89.
- [71] Cole, S. P; Bhardwaj, G; Gerlach, J. H; Mackie, J. E; Grant, C. E; Almquist, K. C; Stewart, A. J; Kurz, E. U; Duncan, A. M; Deeley, R. G. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* **1992**, *258*, 1650–1654.
- [72] Dean, M; Allikmets, R. Complete characterization of the human ABC gene family. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2001**, *33*, 475–479.
- [73] Rosenberg, M. F; Mao, Q; Holzenburg, A; Ford, R. C; Deeley, R. G; Cole, S. P. The structure of the multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1). crystallization and single-particle analysis. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 16076–16082.
- [74] Deeley, R. G; Cole, S. P. C. Substrate recognition and transport by multidrug resistance protein 1 (ABCC1). *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 1103–1111.
- [75] Flens, M. J; Zaman, G. J; van der Valk, P; Izquierdo, M. A; Schroeijsers, A. B; Scheffer, G. L; van der Groep, P; Haas, M. de; Meijer, C. J; Scheper, R. J. Tissue distribution of the multidrug resistance protein. *Am. J. Pathol.* **1996**, *148*, 1237–1247.
- [76] Leslie, E. M; Deeley, R. G; Cole, S. P. C. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2005**, *204*, 216–237.
- [77] Deeley, R. G; Westlake, C; Cole, S. P. C. Transmembrane transport of endo- and xenobiotics by mammalian ATP-binding cassette multidrug resistance proteins. *Physiol. Rev.* **2006**, *86*, 849–899.
- [78] Cole, S. P. C; Deeley, R. G. Transport of glutathione and glutathione conjugates by MRP1. *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 438–446.
- [79] Gekeler, V; Ise, W; Sanders, K. H; Ulrich, W. R; Beck, J. The leukotriene LTD4 receptor antagonist MK571 specifically modulates MRP associated multidrug resistance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, *208*, 345–352.
- [80] Nagayama, S; Chen, Z. S; Kitazono, M; Takebayashi, Y; Niwa, K; Yamada, K; Tani, A; Haraguchi, M; Sumizawa, T; Furukawa, T; Aikou, T; Akiyama, S. Increased sensitivity to vincristine of MDR cells by the leukotriene D4 receptor antagonist, ONO-1078. *Cancer Lett.* **1998**, *130*, 175–182.

- [81] Maeno, K; Nakajima, A; Conseil, G; Rothnie, A; Deeley, R. G; Cole, S. P. C. Molecular basis for reduced estrone sulfate transport and altered modulator sensitivity of transmembrane helix (TM) 6 and TM17 mutants of multidrug resistance protein 1 (ABCC1). *Drug Metab. Dispos.* **2009**, *37*, 1411–1420.
- [82] Nakano, R; Oka, M; Nakamura, T; Fukuda, M; Kawabata, S; Terashi, K; Tsukamoto, K; Noguchi, Y; Soda, H; Kohno, S. A leukotriene receptor antagonist, ONO-1078, modulates drug sensitivity and leukotriene C4 efflux in lung cancer cells expressing multidrug resistance protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *251*, 307–312.
- [83] Norman, B. H; Lander, P. A; Gruber, J. M; Kroin, J. S; Cohen, J. D; Jungheim, L. N; Starling, J. J; Law, K. L; Self, T. D; Tabas, L. B; Williams, D. C; Paul, D. C; Dantzig, A. H. Cyclohexyl-linked tricyclic isoxazoles are potent and selective modulators of the multidrug resistance protein (MRP1). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5526–5530.
- [84] Gollapudi, S; Kim, C. H; Tran, B. N; Sangha, S; Gupta, S. Probenecid reverses multidrug resistance in multidrug resistance-associated protein-overexpressing HL60/AR and H69/AR cells but not in P-glycoprotein-overexpressing HL60/Tax and P388/ADR cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1997**, *40*, 150–158.
- [85] Draper, M. P; Martell, R. L; Levy, S. B. Indomethacin-mediated reversal of multidrug resistance and drug efflux in human and murine cell lines overexpressing MRP, but not P-glycoprotein. *Br. J. Cancer* **1997**, *75*, 810–815.
- [86] Barrand, M. A; Rhodes, T; Center, M. S; Twentyman, P. R. Chemosensitisation and drug accumulation effects of cyclosporin A, PSC-833 and verapamil in human MDR large cell lung cancer cells expressing a 190k membrane protein distinct from P-glycoprotein. *Eur. J. Cancer* **1993**, *29A*, 408–415.
- [87] Chen, Z. S; Aoki, S; Komatsu, M; Ueda, K; Sumizawa, T; Furukawa, T; Okumura, H; Ren, X. Q; Belinsky, M. G; Lee, K; Kruh, G. D; Kobayashi, M; Akiyama, S. Reversal of drug resistance mediated by multidrug resistance protein (MRP) 1 by dual effects of agosterol A on MRP1 function. *Int. J. Cancer* **2001**, *93*, 107–113.
- [88] Versantvoort, C. H; Schuurhuis, G. J; Pinedo, H. M; Eekman, C. A; Kuiper, C. M; Lankelma, J; Broxterman, H. J. Genistein modulates the decreased drug accumulation in non-P-glycoprotein mediated multidrug resistant tumour cells. *Br. J. Cancer* **1993**, *68*, 939–946.
- [89] Wang, S; Folkes, A; Chuckowree, I; Cockcroft, X; Sohal, S; Miller, W; Milton, J; Wren, S. P; Vicker, N; Depledge, P; Scott, J; Smith, L; Jones, H; Mistry, P; Faint, R; Thompson, D; Cocks, S. Studies on pyrrolopyrimidines as selective inhibitors of multidrug-resistance-associated protein in multidrug resistance. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1329–1338.
- [90] Wang, S; Wan, N. C; Harrison, J; Miller, W; Chuckowree, I; Sohal, S; Hancox, T. C; Baker, S; Folkes, A; Wilson, F; Thompson, D; Cocks, S; Farmer, H; Boyce, A; Freathy, C; Broadbridge, J; Scott, J; Depledge, P; Faint, R; Mistry, P; Charlton, P. Design and synthesis of new templates derived from pyrrolopyrimidine as selective multidrug-resistance-associated protein inhibitors in multidrug resistance. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1339–1350.
- [91] Doyle, L. A; Yang, W; Abruzzo, L. V; Krogmann, T; Gao, Y; Rishi, A. K; Ross, D. D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, *95*, 15665–15670.
- [92] Miyake, K; Mickley, L; Litman, T; Zhan, Z; Robey, R; Cristensen, B; Brangi, M; Greenberger, L; Dean, M; Fojo, T; Bates, S. E. Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mito-

- xantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res.* **1999**, 59, 8–13.
- [93] Allikmets, R; Schriml, L. M; Hutchinson, A; Romano-Spica, V; Dean, M. A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Res.* **1998**, 58, 5337–5339.
- [94] Doyle, L. A; Ross, D. D. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene* **2003**, 22, 7340–7358.
- [95] Wong, K; Briddon, S. J; Holliday, N. D; Kerr, I. D. Plasma membrane dynamics and tetrameric organisation of ABCG2 transporters in mammalian cells revealed by single particle imaging techniques. *Biochim. Biophys. Acta.* **2016**, 1863, 19–29.
- [96] Wang, H; Lee, E.-W; Cai, X; Ni, Z; Zhou, L; Mao, Q. Membrane topology of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) determined by epitope insertion and immunofluorescence. *Biochem.* **2008**, 47, 13778–13787.
- [97] Özvegy, C; Litman, T; Szakacs, G; Nagy, Z; Bates, S; Varadi, A; Sarkadi, B. Functional characterization of the human multidrug transporter, ABCG2, expressed in insect cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, 285, 111–117.
- [98] Krishnamurthy, P; Xie, T; Schuetz, J. D. The role of transporters in cellular heme and porphyrin homeostasis. *Pharmacol. Ther.* **2007**, 114, 345–358.
- [99] Fetsch, P. A; Abati, A; Litman, T; Morisaki, K; Honjo, Y; Mittal, K; Bates, S. E. Localization of the ABCG2 mitoxantrone resistance-associated protein in normal tissues. *Cancer Lett.* **2006**, 235, 84–92.
- [100] Robey, R. W; To, K. K. K; Polgar, O; Dohse, M; Fetsch, P; Dean, M; Bates, S. E. ABCG2: a perspective. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2009**, 61, 3–13.
- [101] Jonker, J. W; Merino, G; Musters, S; van Herwaarden, A. E; Bolscher, E; Wagenaar, E; Mesman, E; Dale, T. C; Schinkel, A. H. The breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2) concentrates drugs and carcinogenic xenotoxins into milk. *Nat. Med.* **2005**, 11, 127–129.
- [102] Zhou, S; Morris, J. J; Barnes, Y; Lan, L; Schuetz, J. D; Sorrentino, B. P. Bcrp1 gene expression is required for normal numbers of side population stem cells in mice, and confers relative protection to mitoxantrone in hematopoietic cells in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, 99, 12339–12344.
- [103] van Herwaarden, A. E; Schinkel, A. H. The function of breast cancer resistance protein in epithelial barriers, stem cells and milk secretion of drugs and xenotoxins. *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, 27, 10–16.
- [104] Rabindran, S. K; He, H; Singh, M; Brown, E; Collins, K. I; Annable, T; Greenberger, L. M. Reversal of a novel multidrug resistance mechanism in human colon carcinoma cells by fumitremorgin C. *Cancer Res.* **1998**, 58, 5850–5858.
- [105] Robey, R. W; Honjo, Y; Morisaki, K; Nadjem, T. A; Runge, S; Risbood, M; Poruchynsky, M. S; Bates, S. E. Mutations at amino-acid 482 in the ABCG2 gene affect substrate and antagonist specificity. *Br. J. Cancer* **2003**, 89, 1971–1978.
- [106] Litman, T; Brangi, M; Hudson, E; Fetsch, P; Abati, A; Ross, D. D; Miyake, K; Resau, J. H; Bates, S. E. The multidrug-resistant phenotype associated with overexpression of the new ABC half-transporter, MXR (ABCG2). *J. Cell Sci.* **2000**, 113 (Pt 11), 2011–2021.

- [107] Chen, Z.-S; Robey, R. W; Belinsky, M. G; Shchaveleva, I; Ren, X.-Q; Sugimoto, Y; Ross, D. D; Bates, S. E; Kruh, G. D. Transport of methotrexate, methotrexate polyglutamates, and 17 $\beta$ -estradiol 17-( $\beta$ -D-glucuronide) by ABCG2: effects of acquired mutations at R482 on methotrexate transport. *Cancer Res.* **2003**, 63, 4048–4054.
- [108] Volk, E. L; Schneider, E. Wild-type breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) is a methotrexate polyglutamate transporter. *Cancer Res.* **2003**, 63, 5538–5543.
- [109] Allen, J. D; Brinkhuis, R. F; Wijnholds, J; Schinkel, A. H. The mouse Bcrp1/Mxr/Abcp gene: amplification and overexpression in cell lines selected for resistance to topotecan, mitoxantrone, or doxorubicin. *Cancer Res.* **1999**, 59, 4237–4241.
- [110] Sargent, J. M; Williamson, C. J; Maliepaard, M; Elgie, A. W; Scheper, R. J; Taylor, C. G. Breast cancer resistance protein expression and resistance to daunorubicin in blast cells from patients with acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* **2001**, 115, 257–262.
- [111] Zhou, L; Schmidt, K; Nelson, F. R; Zelesky, V; Troutman, M. D; Feng, B. The effect of breast cancer resistance protein and P-glycoprotein on the brain penetration of flavopiridol, imatinib mesylate (Gleevec), prazosin, and 2-methoxy-3-(4-(2-(5-methyl-2-phenyloxazol-4-yl)ethoxy)phenyl)propanoic acid (PF-407288) in mice. *Drug Metab. Dispos.* **2009**, 37, 946–955.
- [112] Robey, R. W; Medina-Perez, W. Y; Nishiyama, K; Lahusen, T; Miyake, K; Litman, T; Senderowicz, A. M; Ross, D. D; Bates, S. E. Overexpression of the ATP-binding cassette half-transporter, ABCG2 (Mxr/BCrp/ABCP1), in flavopiridol-resistant human breast cancer cells. *Clin. Cancer Res.* **2001**, 7, 145–152.
- [113] Nakatomi, K; Yoshikawa, M; Oka, M; Ikegami, Y; Hayasaka, S; Sano, K; Shiozawa, K; Kawabata, S; Soda, H; Ishikawa, T; Tanabe, S; Kohno, S. Transport of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) by breast cancer resistance protein ABCG2 in human lung cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, 288, 827–832.
- [114] Rajendra, R; Gounder, M. K; Saleem, A; Schellens, J. H. M; Ross, D. D; Bates, S. E; Sinko, P; Rubin, E. H. Differential effects of the breast cancer resistance protein on the cellular accumulation and cytotoxicity of 9-aminocamptothecin and 9-nitrocamptothecin. *Cancer Res.* **2003**, 63, 3228–3233.
- [115] Allen, J. D; van Dort, S. C; Buitelaar, M; van Tellingen, O; Schinkel, A. H. Mouse breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2) mediates etoposide resistance and transport, but etoposide oral availability is limited primarily by P-glycoprotein. *Cancer Res.* **2003**, 63, 1339–1344.
- [116] Haslam, I. S; Wright, J. A; O'Reilly, D. A; Sherlock, D. J; Coleman, T; Simmons, N. L. Intestinal ciprofloxacin efflux: the role of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Drug Metab. Dispos.* **2011**, 39, 2321–2328.
- [117] Lin, X; Skolnik, S; Chen, X; Wang, J. Attenuation of intestinal absorption by major efflux transporters: quantitative tools and strategies using a Caco-2 model. *Drug Metab. Dispos.* **2011**, 39, 265–274.
- [118] Wang, X; Furukawa, T; Nitanda, T; Okamoto, M; Sugimoto, Y; Akiyama, S.-I; Baba, M. Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) induces cellular resistance to HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Mol. Pharmacol.* **2003**, 63, 65–72.
- [119] Pavék, P; Merino, G; Wagenaar, E; Bolscher, E; Novotná, M; Jonker, J. W; Schinkel, A. H. Human breast cancer resistance protein: interactions with steroid drugs, hormones, the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo(4,5-b)pyridine, and transport of cimetidine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, 312, 144–152.

- [120] Breedveld, P; Pluim, D; Cipriani, G; Dahlhaus, F; van Eijndhoven, Maria A J; de Wolf, Cornelia J F; Kuil, A; Beijnen, J. H; Scheffer, G. L; Jansen, G; Borst, P; Schellens, J. H. M. The effect of low pH on breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated transport of methotrexate, 7-hydroxymethotrexate, methotrexate diglutamate, folic acid, mitoxantrone, topotecan, and resveratrol in in vitro drug transport models. *Mol. Pharmacol.* **2007**, *71*, 240–249.
- [121] Breedveld, P; Zelcer, N; Pluim, D; Sonmezer, O; Tibben, M. M; Beijnen, J. H; Schinkel, A. H; van Tellingen, O; Borst, P; Schellens, J. H. M. Mechanism of the pharmacokinetic interaction between methotrexate and benzimidazoles: potential role for breast cancer resistance protein in clinical drug-drug interactions. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 5804–5811.
- [122] Imai, Y; Asada, S; Tsukahara, S; Ishikawa, E; Tsuruo, T; Sugimoto, Y. Breast cancer resistance protein exports sulfated estrogens but not free estrogens. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *64*, 610–618.
- [123] Ebert, B; Seidel, A; Lampen, A. Identification of BCRP as transporter of benzoapyrene conjugates metabolically formed in Caco-2 cells and its induction by Ah-receptor agonists. *Carcinogenesis* **2005**, *26*, 1754–1763.
- [124] Scharenberg, C. W; Harkey, M. A; Torok-Storb, B. The ABCG2 transporter is an efficient Hoechst 33342 efflux pump and is preferentially expressed by immature human hematopoietic progenitors. *Blood* **2002**, *99*, 507–512.
- [125] Robey, R. W; Steadman, K; Polgar, O; Morisaki, K; Blayney, M; Mistry, P; Bates, S. E. Pheophorbide a is a specific probe for ABCG2 function and inhibition. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 1242–1246.
- [126] Krishnamurthy, P; Ross, D. D; Nakanishi, T; Bailey-Dell, K; Zhou, S; Mercer, K. E; Sarkadi, B; Sorrentino, B. P; Schuetz, J. D. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 24218–24225.
- [127] Robey, R. W; Fetsch, P. A; Polgar, O; Dean, M; Bates, S. E. The livestock photosensitizer, phytylporphyrin (phylloerythrin), is a substrate of the ATP-binding cassette transporter ABCG2. *Res. Vet. Sci.* **2006**, *81*, 345–349.
- [128] Robey, R. W; Steadman, K; Polgar, O; Bates, S. E. ABCG2-mediated transport of photosensitizers: potential impact on photodynamic therapy. *Cancer Biol. Ther.* **2005**, *4*, 187–194.
- [129] Allen, J. D; Jackson, S. C; Schinkel, A. H. A mutation hot spot in the Bcrp1 (Abcg2) multidrug transporter in mouse cell lines selected for Doxorubicin resistance. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 2294–2299.
- [130] Honjo, Y; Hrycyna, C. A; Yan, Q. W; Medina-Perez, W. Y; Robey, R. W; van de Laar, A; Litman, T; Dean, M; Bates, S. E. Acquired mutations in the MXR/BCRP/ABCP gene alter substrate specificity in MXR/BCRP/ABCP-overexpressing cells. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 6635–6639.
- [131] Mitomo, H; Kato, R; Ito, A; Kasamatsu, S; Ikegami, Y; Kii, I; Kudo, A; Kobatake, E; Sumino, Y; Ishikawa, T. A functional study on polymorphism of the ATP-binding cassette transporter ABCG2: critical role of arginine-482 in methotrexate transport. *Biochem. J.* **2003**, *373*, 767–774.
- [132] Rabindran, S. K; Ross, D. D; Doyle, L. A; Yang, W; Greenberger, L. M. Fumitremorgin C reverses multidrug resistance in cells transfected with the breast cancer resistance protein. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 47–50.
- [133] Allen, J. D; van Loevezijn, A; Lakhai, J. M; van der Valk, M; van Tellingen, O; Reid, G; Schellens, J. H. M; Koomen, G.-J; Schinkel, A. H. Potent and specific inhibition of the breast cancer resistance protein multidrug transporter in vitro and in mouse intestine by a novel analogue of fumitremorgin C. *Mol. Cancer Ther.* **2002**, *1*, 417–425.

- [134] Bruin, M. de; Miyake, K; Litman, T; Robey, R; Bates, S. E. Reversal of resistance by GF120918 in cell lines expressing the ABC half-transporter, MXR. *Cancer Lett.* **1999**, *146*, 117–126.
- [135] Ozvegy-Laczka, C; Hegedus, T; Varady, G; Ujhelly, O; Schuetz, J. D; Varadi, A; Keri, G; Orfi, L; Nemet, K; Sarkadi, B. High-affinity interaction of tyrosine kinase inhibitors with the ABCG2 multi-drug transporter. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 1485–1495.
- [136] Erlichman, C; Boerner, S. A; Hallgren, C. G; Spieker, R; Wang, X. Y; James, C. D; Scheffer, G. L; Maliepaard, M; Ross, D. D; Bible, K. C; Kaufmann, S. H. The HER tyrosine kinase inhibitor CI1033 enhances cytotoxicity of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin and topotecan by inhibiting breast cancer resistance protein-mediated drug efflux. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 739–748.
- [137] Nakamura, Y; Oka, M; Soda, H; Shiozawa, K; Yoshikawa, M; Itoh, A; Ikegami, Y; Tsurutani, J; Nakatomi, K; Kitazaki, T; Doi, S; Yoshida, H; Kohno, S. Gefitinib ("Iressa", ZD1839), an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, reverses breast cancer resistance protein/ABCG2-mediated drug resistance. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 1541–1546.
- [138] Houghton, P. J; Germain, G. S; Harwood, F. C; Schuetz, J. D; Stewart, C. F; Buchdunger, E; Traxler, P. Imatinib mesylate is a potent inhibitor of the ABCG2 (BCRP) transporter and reverses resistance to topotecan and SN-38 in vitro. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 2333–2337.
- [139] Brendel, C; Scharenberg, C; Dohse, M; Robey, R. W; Bates, S. E; Shukla, S; Ambudkar, S. V; Wang, Y; Wennemuth, G; Burchert, A; Boudriot, U; Neubauer, A. Imatinib mesylate and nilotinib (AMN107) exhibit high-affinity interaction with ABCG2 on primitive hematopoietic stem cells. *Leukemia* **2007**, *21*, 1267–1275.
- [140] Elkind, N. B; Szentpetery, Z; Apati, A; Ozvegy-Laczka, C; Varady, G; Ujhelly, O; Szabo, K; Homolya, L; Varadi, A; Buday, L; Keri, G; Nemet, K; Sarkadi, B. Multidrug transporter ABCG2 prevents tumor cell death induced by the epidermal growth factor receptor inhibitor Iressa (ZD1839, Gefitinib). *Cancer Res.* **2005**, *65*, 1770–1777.
- [141] Burger, H; van Tol, H; Boersma, A. W. M; Brok, M; Wiemer, E. A. C; Stoter, G; Nooter, K. Imatinib mesylate (STI571) is a substrate for the breast cancer resistance protein (BCRP)/ABCG2 drug pump. *Blood* **2004**, *104*, 2940–2942.
- [142] Zhang, S; Yang, X; Morris, M. E. Flavonoids are inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated transport. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 1208–1216.
- [143] Imai, Y; Tsukahara, S; Asada, S; Sugimoto, Y. Phytoestrogens/flavonoids reverse breast cancer resistance protein/ABCG2-mediated multidrug resistance. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 4346–4352.
- [144] Morris, M. E; Zhang, S. Flavonoid-drug interactions: effects of flavonoids on ABC transporters. *Life Sci.* **2006**, *78*, 2116–2130.
- [145] Claisen, L; Claparède, A. Condensationen von Ketonen mit Aldehyden. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 2460–2468.
- [146] Schmidt, J. G. Ueber die Einwirkung von Aceton auf Furfurol und auf Bittermandelöl bei Gegenwart von Alkalilauge. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 1459–1461.
- [147] Nowakowska, Z; Kedzia, B; Schroeder, G. Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial evaluation of new (E)-chalcones. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 707–713.
- [148] Sugamoto, K; Matsusita, Y.-i; Matsui, K; Kurogi, C; Matsui, T. Synthesis and antibacterial activity of chalcones bearing prenyl or geranyl groups from *Angelica keiskei*. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5346–5359.



- [149] Nowakowska, Z. A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 125–137.
- [150] Herencia, F; Ferrándiz, M; Ubeda, A; Domínguez, J; Charris, J. E; Lobo, G. M; Alcaraz, M. Synthesis and anti-inflammatory activity of chalcone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *8*, 1169–1174.
- [151] Gafner, S; Wolfender, J. L; Mavi, S; Hostettmann, K. Antifungal and antibacterial chalcones from *Myrica serrata*. *Planta medica* **1996**, *62*, 67–69.
- [152] Lahtchev, K. L; Batovska, D. I; Parushev, S. P; Ubiyovk, V. M; Sibirny, A. A. Antifungal activity of chalcones: a mechanistic study using various yeast strains. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 2220–2228.
- [153] Enoki, T; Ohnogi, H; Nagamine, K; Kudo, Y; Sugiyama, K; Tanabe, M; Kobayashi, E; Sagawa, H; Kato, I. Antidiabetic activities of chalcones isolated from a Japanese Herb, *Angelica keiskei*. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 6013–6017.
- [154] Anto, R. J; Sukumaran, K; Kuttan, G; Rao, M; Subbaraju, V; Kuttan, R. Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. *Cancer Lett.* **1995**, *97*, 33–37.
- [155] Vogel, S; Ohmayer, S; Brunner, G; Heilmann, J. Natural and non-natural prenylated chalcones: synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4286–4293.
- [156] Bandgar, B. P; Gawande, S. S; Bodade, R. G; Totre, J. V; Khobragade, C. N. Synthesis and biological evaluation of simple methoxylated chalcones as anticancer, anti-inflammatory and antioxidant agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 1364–1370.
- [157] Modzelewska, A; Pettit, C; Achanta, G; Davidson, N. E; Huang, P; Khan, S. R. Anticancer activities of novel chalcone and bis-chalcone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3491–3495.
- [158] Pingaew, R; Saekee, A; Mandi, P; Nantasenamat, C; Prachayasittikul, S; Ruchirawat, S; Prachayasittikul, V. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel chalcone-coumarin hybrids as anticancer and antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *85*, 65–76.
- [159] Scambia, G; Ranelletti, F; Benedetti Panici, P; De Vincenzo, R; Bonanno, G; Ferrandina, G; Piantelli, M; Bussa, S; Rumi, C; Cianfriglia, M; Mancuso, S. Quercetin potentiates the effect of adriamycin in a multidrug-resistant MCF-7 human breast-cancer cell line: P-glycoprotein as a possible target. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1994**, *34*, 459–464.
- [160] Shapiro, A. B; Ling, V. Effect of quercetin on hoechst 33342 transport by purified and reconstituted p-glycoprotein. *Biochem. Pharmacol.* **1997**, *53*, 587–596.
- [161] Conseil, G; Baubichon-Cortay, H; Dayan, G; Jault, J.-M; Barron, D; Di Pietro, A. Flavonoids: A class of modulators with bifunctional interactions at vicinal ATP- and steroid-binding sites on mouse P-glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, *95*, 9831–9836.
- [162] Bois, F; Beney, C; Boumendjel, A; Mariotte, A. M; Conseil, G; Di Pietro, A. Halogenated chalcones with high-affinity binding to P-glycoprotein: potential modulators of multidrug resistance. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4161–4164.
- [163] Ivanova, A; Batovska, D; Engi, H; Parushev, S; Ocsovszki, I; Kostova, I; Molnar, J. MDR-reversal activity of chalcones. *In Vivo* **2008**, *22*, 379–384.
- [164] Liu, X.-L; Tee, H.-W; Go, M.-L. Functionalized chalcones as selective inhibitors of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 171–180.

- [165] Han, Y; Riwanto, M; Go, M.-L; Ee, P. L. Modulation of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) by non-basic chalcone analogues. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2008**, 35, 30–41.
- [166] Boumendjel, A; McLeer-Florin, A; Champelovier, P; Allegro, D; Muhammad, D; Souard, F; Derouazi, M; Peyrot, V; Toussaint, B; Boutonnat, J. A novel chalcone derivative which acts as a microtubule depolymerising agent and an inhibitor of P-gp and BCRP in in-vitro and in-vivo glioblastoma models. *BMC cancer* **2009**, 9, 242.
- [167] Juvalé, K; Pape, V. F. S; Wiese, M. Investigation of chalcones and benzochalcones as inhibitors of breast cancer resistance protein. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 346–355.
- [168] Winter, E; Gozzi, G; Chiaradia-Delatorre, L. D; Daflon-Yunes, N; Terreux, R; Gauthier, C; Mascarello, A; Leal, P. C; Cadena, S; Yunes, R. A; Nunes, R. J; Creczynski-Pasa, T. B; Di Pietro, A. Quinoxaline-substituted chalcones as new inhibitors of breast cancer resistance protein ABCG2: Polyspecificity at B-ring position. *Drug Des. Devel. Ther.* **2014**, 609–619.
- [169] Winter, E; Devantier Neuenfeldt, P; Chiaradia-Delatorre, L. D; Gauthier, C; Yunes, R. A; Nunes, R. J; Creczynski-Pasa, T. B; Di Pietro, A. Symmetric bis-chalcones as a new type of breast cancer resistance protein inhibitors with a mechanism different from that of chromones. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 2930–2941.
- [170] Takamiya, K. I; Tsuchiya, T; Ohta, H. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? *Trends Plant Sci.* **2000**, 5, 426–431.
- [171] Lee, W.-Y; Lim, D.-S; Ko, S.-H; Park, Y.-J; Ryu, K.-S; Ahn, M.-Y; Kim, Y.-R; Lee, D. W; Cho, C.-W. Photoactivation of pheophorbide a induces a mitochondrial-mediated apoptosis in Jurkat leukaemia cells. *J. Photochem. Photobiol.* **2004**, 75, 119–126.
- [172] Hajri, A; Wack, S; Meyer, C; Smith, M. K; Leberquier, C; Keding, M; Aprahamian, M. In vitro and in vivo efficacy of photofrin and pheophorbide a, a bacteriochlorin, in photodynamic therapy of colonic cancer cells. *Photochem. Photobiol.* **2002**, 75, 140–148.
- [173] Jonker, J. W; Buitelaar, M; Wagenaar, E; Van Der Valk, Martin A; Scheffer, G. L; Scheper, R. J; Plosch, T; Kuipers, F; Elferink, Ronald P J Oude; Rosing, H; Beijnen, J. H; Schinkel, A. H. The breast cancer resistance protein protects against a major chlorophyll-derived dietary phototoxin and protoporphyria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, 99, 15649–15654.
- [174] Baptista, L; Silva, K; Pedrosa, C; Borojevic, R. Processing of Lipoaspirate Samples for Optimal Mesenchymal Stem Cells Isolation, in: Diego Schavelzon, Andrea Markowsky, Guillermo Blugerman, Javier Soto, Jorge A. D'Angelo, Louis Habbema, Maria Siguen, Peter Lisborg, Rodrigo Moreno, Stefan Rapprich (Eds.), Application of the Liposuction Techniques and Principles in Specific Body Areas and Pathologies, *INTECH Open Access Publisher*, **2011**.
- [175] Adhikary, A; Buschmann, V; Muller, C; Sauer, M. Ensemble and single-molecule fluorescence spectroscopic study of the binding modes of the bis-benzimidazole derivative Hoechst 33258 with DNA. *Nucleic Acids Res.* **2003**, 31, 2178–2186.
- [176] Tawar, U; Jain, A. K; Chandra, R; Singh, Y; Dwarakanath, B. S; Chaudhury, N. K; Good, L; Tandon, V. Minor groove binding DNA ligands with expanded A/T sequence length recognition, selective binding to bent DNA regions and enhanced fluorescent properties. *Biochem.* **2003**, 42, 13339–13346.
- [177] Kiechle, F. L; Zhang, X. Apoptosis: biochemical aspects and clinical implications. *Clin. Chim. Acta* **2002**, 326, 27–45.

- [178] Tiberghien, F; Loor, F. Ranking of P-glycoprotein substrates and inhibitors by a calcein-AM fluorometry screening assay. *Anticancer Drugs* **1996**, 7, 568–578.
- [179] Feller, N; Broxterman, H. J; Wahrer, D. C; Pinedo, H. M. ATP-dependent efflux of calcein by the multidrug resistance protein (MRP): no inhibition by intracellular glutathione depletion. *FEBS Lett.* **1995**, 368, 385–388.
- [180] Essodaigui, M; Broxterman, H. J; Garnier-Suillerot, A. Kinetic analysis of calcein and calcein-acetoxymethylester efflux mediated by the multidrug resistance protein and P-glycoprotein. *Biochem.* **1998**, 37, 2243–2250.
- [181] Müller, H; Kassack, M. U; Wiese, M. Comparison of the usefulness of the MTT, ATP, and calcein assays to predict the potency of cytotoxic agents in various human cancer cell lines. *J. Biomol. Screen.* **2004**, 9, 506–515.
- [182] Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55–63.
- [183] Küçüküzümlü, Ş. G; Şenkardeş, S. Recent advances in bioactive pyrazoles. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 97, 786–815.
- [184] Juvalle, K; Gallus, J; Wiese, M. Investigation of quinazolines as inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 7858–7873.
- [185] Knorr, L. Einwirkung von Acetessigester auf Phenylhydrazin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1883**, 16, 2597–2599.
- [186] Noe, F. F; Fowden, L.  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -(pyrazolyl-N) Propionic Acid: A New Amino-Acid from *Citrullus vulgaris* (Water Melon). *Nature* **1959**, 184, B.A.69–B.A.70.
- [187] Eicher, T; Hauptmann, S; Speicher, A; Suschitzky, H. The chemistry of heterocycles: Structure, reactions, syntheses, and applications, 2nd ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
- [188] Chauhan, A; Sharma, P. K; Kaushik, N. Pyrazole: A Versatile Moiety. *Int. J. ChemTech Res.* **2011**, 11–17.
- [189] Sauzem, P. D; Machado, P; Rubin, M. A; da S. Sant'Anna, G; Faber, H. B; Souza, A. H. de; Mello, C. F; Beck, P; Burrow, R. A; Bonacorso, H. G; Zanatta, N; Martins, M. A. Design and microwave-assisted synthesis of 5-trifluoromethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles: Novel agents with analgesic and anti-inflammatory properties. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1237–1247.
- [190] Vijesh, A. M; Isloor, A. M; Shetty, P; Sundershan, S; Fun, H. K. New pyrazole derivatives containing 1,2,4-triazoles and benzoxazoles as potent antimicrobial and analgesic agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 62, 410–415.
- [191] Mohd Amir, S. K. Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic and lipid peroxidation activities of 3,5-dimethyl pyrazoles, 3-methyl pyrazol-5-ones and 3,5-disubstituted pyrazolines. *Indian J. Chem.* **2005**, 2532–2537.
- [192] Anandarajagopal, K; Anbu Jeba Sunilson, J; Illavarasu, A; Thangavelpandian, N; Kalirajan, R. Antiepileptic and Antimicrobial Activities of Novel 1-(unsubstituted/substituted)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole Derivatives. *Int. J. ChemTech Res.* **2010**, 45–49.

- [193] Koç, G; Tan, O; Uçar, G; Yıldırım, E; Erol, K; Palaska, E. Synthesis and Monoamine Oxidase Inhibitory Activities of some 3-(4-Fluorophenyl)-5-aryl-N-substituted-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole-1-carbothioamide Derivatives. *Drug Res. (Stuttg)* **2014**, 64, 591–598.
- [194] Bilgin, A. A; Palaska, E; Sunal, R. Studies on the synthesis and antidepressant activity of some 1-thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-2-pyrazolines. *Arzneimittelforschung* **1993**, 1041–1044.
- [195] Soliman, R. Preparation and antidiabetic activity of some sulfonylurea derivatives of 3,5-disubstituted pyrazoles. *J. Med. Chem.* **1979**, 22, 321–325.
- [196] Faidallah, H. M; Khan, K. A; Asiri, A. M. Synthesis and biological evaluation of new 3-trifluoromethylpyrazolesulfonyl-urea and thiourea derivatives as antidiabetic and antimicrobial agents. *J. Fluor. Chem.* **2011**, 132, 131–137.
- [197] López-Viseras, M. E; Fernández, B; Hilfiker, S; González, C. S; González, J. L; Calahorra, A. J; Colacio, E; Rodríguez-Diéguez, A. In vivo potential antidiabetic activity of a novel zinc coordination compound based on 3-carboxy-pyrazole. *J. Inorg. Biochem.* **2014**, 131, 64–67.
- [198] Juvalé, K; Wiese, M. 4-Substituted-2-phenylquinazolines as inhibitors of BCRP. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 22, 6766–6769.
- [199] Köhler, S. C; Wiese, M. HM30181 Derivatives as Novel Potent and Selective Inhibitors of the Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2). *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 3910–3921.
- [200] Juvalé, K; Stefan, K; Wiese, M. Synthesis and biological evaluation of flavones and benzoflavones as inhibitors of BCRP/ABCG2. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 67, 115–126.
- [201] Fischer, E; Knoevenagel, O. 2) Ueber die Verbindungen des Phenylhydrazins mit Acrolein, Mesityloxyd und Allylbromid);. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1887**, 239, 194–206.
- [202] Catarzi, D; Colotta, V; Varano, F; Poli, D; Squarcialupi, L; Filacchioni, G; Varani, K; Vincenzi, F; Borea, P. A; Dal Ben, D; Lambertucci, C; Cristalli, G. Pyrazolo[1,5-c]quinazoline derivatives and their simplified analogues as adenosine receptor antagonists: synthesis, structure-affinity relationships and molecular modeling studies. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 283–294.
- [203] Maleki, B; Veisi, H. Aromatization of 1,3,5-Trisubstituted of 4,5-Dihydro-1H-Pyrazoles by In-Situ Generation of I<sup>+</sup> from Hydrogen Peroxide/Acids/Iodide Potassium or Sodium Systems. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2011**, 32, 4366–4370.
- [204] Landge, S; Schmidt, A; Outerbridge, V; Török, B. Synthesis of Pyrazoles by a One-Pot Tandem Cyclization-Dehydrogenation Approach on Pd/C/K-10 Catalyst. *Synlett* **2007**, 2007, 1600–1604.
- [205] Seelig, A. A general pattern for substrate recognition by P-glycoprotein. *Eur. J. Biochem.* **1998**, 251, 252–261.
- [206] Bruin, M. de; Miyake, K; Litman, T; Robey, R; Bates, S. E. Reversal of resistance by GF120918 in cell lines expressing the ABC half-transporter, MXR. *Cancer Lett.* **1999**, 146, 117–126.
- [207] Winter, E; Lecerf-Schmidt, F; Gozzi, G; Peres, B; Lightbody, M; Gauthier, C; Ozvegy-Laczka, C; Szakacs, G; Sarkadi, B; Creczynski-Pasa, T. B; Boumendjel, A; Di Pietro, A. Structure–Activity Relationships of Chromone Derivatives toward the Mechanism of Interaction with and Inhibition of Breast Cancer Resistance Protein ABCG2. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 9849–9860.
- [208] Kühnle, M; Egger, M; Müller, C; Mahringer, A; Bernhardt, G; Fricker, G; König, B; Buschauer, A. Potent and Selective Inhibitors of Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) Derived from the p - Glycoprotein (ABCB1) Modulator Tariquidar. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 1190–1197.

- [209] Kraege, S; Köhler, S. C; Wiese, M. Acryloylphenylcarboxamides: A New Type of Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) Modulators. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 2422-2435.
- [210] Kraege, S; Stefan, K; Köhler, S. C; Wiese, M. Optimization of Acryloylphenylcarboxamides as Inhibitors of ABCG2 and Comparison with Acryloylphenylcarboxylates. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 2547-2558.
- [211] Jin, G. H; Ha, S. K; Park, H. M; Kang, B; Kim, S. Y; Kim, H.-D; Ryu, J.-H; Jeon, R. Synthesis of azaisoflavones and their inhibitory activities of NO production in activated microglia. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4092-4094.
- [212] Kraege, S; Stefan, K; Juvalé, K; Ross, T; Willmes, T; Wiese, M. The combination of quinazoline and chalcone moieties leads to novel potent heterodimeric modulators of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *117*, 212-229.
- [213] Chemical Computing Group Inc. Molecular Operating Environment (MOE), 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, **H3A 2R7**.
- [214] Gandhi, Y. A; Morris, M. E. Structure-activity relationships and quantitative structure-activity relationships for breast cancer resistance protein (ABCG2). *AAPS J.* **2009**, *11*, 541-552.
- [215] Stacy, A. E; Jansson, P. J; Richardson, D. R. Molecular Pharmacology of ABCG2 and Its Role in Chemoresistance. *Mol. Pharmacol.* **2013**, *84*, 655-669.
- [216] Gabriel, S. Ueber das Chinazolin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1903**, *36*, 800-813.
- [217] Asif, M. Chemical Characteristics, Synthetic Methods, and Biological Potential of Quinazoline and Quinazolinone Derivatives. *Int. J. Med. Chem.* **2014**, *2014*, 1-27.
- [218] Hayao, S; Havera, H. J; Strycker, W. G; Leipzig, T. J; Kulp, R. A; Hartzler, H. E. New Sedative and Hypotensive 3-Substituted 2,4(1H,3H)-Quinazolinediones. *J. Med. Chem.* **1965**, *8*, 807-811.
- [219] Kashaw, S. K; Gupta, V; Kashaw, V; Mishra, P; Stables, J. P; Jain, N. K. Anticonvulsant and sedative-hypnotic activity of some novel 3-[5-(4-substituted) phenyl-1,3,4-oxadiazole-2yl]-2-styrylquinazoline-4(3H)-ones. *Med. Chem. Res.* **2010**, *19*, 250-261.
- [220] Werbel, L. M; Degnan, M. J. Synthesis and antimalarial and antitumor effects of 2-amino-4-(hydrazino and hydroxyamino)-6-[(aryl)thio]quinazolines. *J. Med. Chem.* **1987**, 2151-2154.
- [221] Kikuchi, H; Yamamoto, K; Horoiwa, S; Hirai, S; Kasahara, R; Hariguchi, N; Matsumoto, M; Oshima, Y. Exploration of a New Type of Antimalarial Compounds Based on Febrifugine. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4698-4706.
- [222] Verhaeghe, P; Azas, N; Gasquet, M; Hutter, S; Ducros, C; Laget, M; Rault, S; Rathelot, P; Vanelle, P. Synthesis and antiplasmodial activity of new 4-aryl-2-trichloromethylquinazolines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 396-401.
- [223] Alafeefy, A. M; Kadi, A. A; Al-Deeb, O. A; El-Tahir, K. E; Al-jaber, N. A. Synthesis, analgesic and anti-inflammatory evaluation of some novel quinazoline derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4947-4952.
- [224] Hemalatha, K; Girija, K. Synthesis of some novel 2,3- disubstituted quinazolinone derivatives as analgesic and antiinflammatory agents. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2011**, 103-106.
- [225] Yen, M. H; Sheu, J. R; Peng, I. H; Lee, Y. M; Chern, J. W. Pharmacological Activity of DC-015, a Novel Potent and Selective  $\alpha$  1-Adrenoceptor Antagonist. *J. Pharm. Pharmacol.* **1996**, *48*, 90-95.

- [226] Jain, K. S; Bariwal, J. B; Kathiravan, M. K; Phoujdar, M. S; Sahne, R. S; Chauhan, B. S; Shah, A. K; Yadav, M. R. Recent advances in selective  $\alpha$ 1-adrenoreceptor antagonists as antihypertensive agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4759–4800.
- [227] He, J; Wang, X; Zhao, X; Liang, Y; He, H; Fu, L. Synthesis and antitumor activity of novel quinazoline derivatives containing thiosemicarbazide moiety. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 925–930.
- [228] Marvania, B; Lee, P.-C; Chaniyara, R; Dong, H; Suman, S; Kakadiya, R; Chou, T.-C; Lee, T.-C; Shah, A; Su, T.-L. Design, synthesis and antitumor evaluation of phenyl N-mustard-quinazoline conjugates. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 1987–1998.
- [229] Abdel Gawad, N. M; Georgey, H. H; Youssef, R. M; El-Sayed, N. A. Synthesis and antitumor activity of some 2, 3-disubstituted quinazolin-4(3H)-ones and 4, 6-disubstituted- 1, 2, 3, 4-tetrahydroquinazolin-2H-ones. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 6058–6067.
- [230] Chandrika, P. M; Yakaiah, T; Rao, A. R. R; Narsaiah, B; Reddy, N. C; Sridhar, V; Rao, J. V. Synthesis of novel 4,6-disubstituted quinazoline derivatives, their anti-inflammatory and anti-cancer activity (cytotoxic) against U937 leukemia cell lines☆. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 846–852.
- [231] Ozvegy, C; Varadi, A; Sarkadi, B. Characterization of Drug Transport, ATP Hydrolysis, and Nucleotide Trapping by the Human ABCG2 Multidrug Transporter: MODULATION OF SUBSTRATE SPECIFICITY BY A POINT MUTATION. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 47980–47990.
- [232] Robey, R. W; Honjo, Y; van de Laar, A; Miyake, K; Regis, J. T; Litman, T; Bates, S. E. A functional assay for detection of the mitoxantrone resistance protein, MXR (ABCG2). *Biochim. Biophys. Acta.* **2001**, *1512*, 171–182.
- [233] Brangi, M; Litman, T; Hudson, E; Fetsch, P; Abati, A; Ross, D; Miyake, K; Resau, J. H; Bates, S. The multidrug-resistant phenotype associated with overexpression of the new ABC half-transporter, MXR (ABCG2). *J. Cell Sci.* **2000**, 2011–2021.
- [234] Wakeling, A. E; Guy, S. P; Woodburn, J. R; Ashton, S. E; Curry, B. J; Barker, A. J; Gibson, K. H. ZD1839 (Iressa) An Orally Active Inhibitor of Epidermal Growth Factor Signaling with Potential for Cancer Therapy. *Cancer Res.* **2002**, 5749–5754.
- [235] Albanell, J. Pharmacodynamic Studies of the Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor ZD1839 in Skin From Cancer Patients: Histopathologic and Molecular Consequences of Receptor Inhibition. *J. Clin. Oncol.* **2002**, *20*, 110–124.
- [236] Kae Yanase, Satomi Tsukahara, Sakiyo Asada, Etsuko Ishikawa, Yasuo Imai and Yoshikazu Sugimoto Gefitinib reverses breast cancer resistance protein-mediated drug resistance. *Mol. Cancer Ther.* **2004**, *3*, 1119.
- [237] Pick, A; Wiese, M. Tyrosine Kinase Inhibitors Influence ABCG2 Expression in EGFR-Positive MDCK BCRP Cells via the PI3K/Akt Signaling Pathway. *Chem. Med. Chem.* **2012**, *7*, 650–662.
- [238] Chan, K.-F; Wong, I. L. K; Kan, J. W. Y; Yan, C. S. W; Chow, L. M. C; Chan, T. H. Amine Linked Flavonoid Dimers as Modulators for P-Glycoprotein-Based Multidrug Resistance: Structure–Activity Relationship and Mechanism of Modulation. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1999–2014.
- [239] Pires, M. M; Emmert, D; Hrycyna, C. A; Chmielewski, J. Inhibition of P-Glycoprotein-Mediated Paclitaxel Resistance by Reversibly Linked Quinine Homodimers. *Mol. Pharmacol.* **2008**, *75*, 92–100.

- [240] Namanja, H. A; Emmert, D; Pires, M. M; Hrycyna, C. A; Chmielewski, J. Inhibition of human P-glycoprotein transport and substrate binding using a galantamine dimer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2009**, *388*, 672–676.
- [241] Niementowski, S. Synthesen von Chinazolinverbindungen. *J. Prakt. Chem.* **1895**, *51*, 546–572.
- [242] Xue, Y; Gong, X. The conformational, electronic and spectral properties of chalcones: A density functional theory study. *J. Mol. Struct. Theochem* **2009**, *901*, 226–231.
- [243] Larsen, M; Kromann, H; Kharazmi, A; Nielsen, S. F. Conformationally restricted anti-plasmodial chalcones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4858–4861.
- [244] Lutz, R. E; Jordan, R. H. cis-Benzalacetophenone. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 4090–4091.
- [245] Jurd, L. Anthocyanidins and related compounds. XV. The effects of sunlight on flavylum salt-chalcone equilibrium in acid solutions. *Tetrahedron* **1969**, *25*, 2367–2380.
- [246] Iwata, S; Nishino, T; Inoue, H; Nagata, N; Satomi, Y; Nishino, H; Shibata, S. Antitumorigenic Activities of Chalcones (II). Photo-isomerization of Chalcones and the Correlation with Their Biological Activities. *Biol. Pharm. Bull.* **1997**, *20*, 1266–1270.
- [247] Pick, A; Müller, H; Wiese, M. Structure-activity relationships of new inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8224–8236.
- [248] Marighetti, F; Steggemann, K; Karbaum, M; Wiese, M. Scaffold identification of a new class of potent and selective BCRP inhibitors. *ChemMedChem* **2015**, *10*, 742–751.
- [249] Müller, H; Pajeva, I. K; Globisch, C; Wiese, M. Functional assay and structure-activity relationships of new third-generation P-glycoprotein inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 2448–2462.





## Tabellenverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| Tabelle 1.1: Substrate und Inhibitoren von ABCB1 (Auswahl nach [27,49–55]).....  | 6  |
| Tabelle 1.2: Auswahl an ABCG2 Substraten. ....   | 11 |
| Tabelle 3.1: Inhibitorische Aktivität der Pyrazoline gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay<br>unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie. ....   | 29 |
| Tabelle 3.2: Inhibitorische Aktivität der 2-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole ( <b>55-<br/>67</b> ) gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP<br>Zelllinie. ....   | 35 |
| Tabelle 3.3: Inhibitorische Aktivität der 1-(5-substituierten-1H-pyrazol-3-yl)naphthalen-1-ole ( <b>68-<br/>79</b> ) gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A und teilweise auch im Hoechst33342 Assay<br>unter Verwendung der MDCK II BCRP Zellen. ....   | 37 |
| Tabelle 3.4: Inhibitorische Aktivität ausgewählter Verbindungen unter Angabe der gemittelten<br>IC <sub>50</sub> -Werte $\pm$ SD und maximaler Inhibition (I <sub>max</sub> ) im Calcein AM Assay unter Verwendung der<br>ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen (n $\geq$ 3). Zum Vergleich erfolgte die Messung<br>gegen den Standard Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition). .... | 41 |
| Tabelle 3.5: Intrinsische Zytotoxizität ausgewählter Pyrazole ermittelt im MTT Assay unter<br>Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie. ....  | 42 |
| Tabelle 4.1: Synthetisierte Acryloylphenylcarboxamide <b>93-112</b> und ihre inhibitorische Aktivität<br>gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay unter Verwendung<br>der MDCK II BCRP Zelllinie. Ko143 diente dabei als Standard. ....  | 49 |
| Tabelle 4.2: Synthetisierte Acryloylphenylcarboxamide <b>113-128</b> und ihre inhibitorische<br>Aktivität gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay unter<br>Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie. Ko143 diente als Standard. ....   | 51 |
| Tabelle 4.3: Inhibitorischer Effekt ausgewählter Verbindungen gegenüber ABCB1 bestimmt im<br>Calcein AM Assay unter Verwendung der resistenten A2780adr Zelllinie. ....  | 55 |
| Tabelle 4.4: Intrinsische Zytotoxizität ausgewählter Verbindungen gegenüber MDCK II BCRP und<br>MDCK II Wildtyp Zellen ermittelt im MTT Assay. ....  | 58 |
| Tabelle 4.5: Inhibitorische Aktivität der 4'-Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide<br>gegenüber ABCG2. Die IC <sub>50</sub> -Werte wurden mittels des Hoechst 33342 und teilweise des<br>Pheophorbid A Assays (n $\geq$ 3) unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie bestimmt. Als<br>Standard diente Ko143. ....   | 66 |
| Tabelle 4.6: Inhibitorische Aktivität der 4',5'- und 4',6'-Dimethoxy-substituierten<br>Acryloylphenylcarboxamide ermittelt im Hoechst 33342 Assay unter Verwendung der MDCK<br>II BCRP Zelllinie. ....   | 67 |

|  |     |
|--|-----|
| Tabelle 4.7: Inhibitorischer Effekt ausgewählter Verbindungen im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zelllinie. ....   | 70  |
| Tabelle 4.8: Intrinsische Zytotoxizität ausgewählter 4'-Methoxy-substituierter Acryloylphenylcarboxamide bestimmt im MTT Assay unter Verwendung von MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zellen. Zum direkten Vergleich sind die im Hoechst 33342 Assay ermittelten IC <sub>50</sub> -Werte aufgeführt. .... | 71  |
| Tabelle 4.9: Sensitivierung der MDCK II BCRP Zelllinie gegenüber dem Zytostatikum SN-38 durch Zugabe ausgewählter Inhibitoren in verschiedenen Konzentrationen (0,1 und 0,5 µmol/l). ....  | 74  |
| Tabelle 4.10: Inhibitorischer Effekt der Acryloylphenylcarboxylate im Hoechst33342 Assay unter Verwendung der ABCG2 überexprimierenden MDCK II BCRP Zelllinie sowie eine Gegenüberstellung mit den entsprechenden IC <sub>50</sub> -Werten der Amid Analoga. Ko143 diene als Standard. ....              | 78  |
| Tabelle 5.1: Inhibitorische Aktivität der Chinazolin-Chalkone im Pheophorbid A Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zellen. Ko143 diene als Standard. ....  | 89  |
| Tabelle 5.2: Inhibitorische Aktivität ausgewählter Chinazolin-Chalkone gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay unter Verwendung der A2780adr Zellen. Zum Vergleich diene der Standard Cyclosporin A. ....  | 95  |
| Tabelle 5.3: Therapeutischer Index ausgewählter Chinazolin-Chalkone ermittelt aus dem GI <sub>50</sub> -Wert (MTT Zytotoxizität Assay) und dem IC <sub>50</sub> -Wert (Pheophorbid A Assay). Die GI <sub>50</sub> -Daten an MDCK II Wildtyp Zellen dienen zum Vergleich und Ko143 als Standard. ....     | 103 |
| Tabelle 5.4: Therapeutischer Index der an ABCB1 aktiven Chinazolin-Chalkone ermittelt aus den IC <sub>50</sub> -(Calcein AM Assay) und GI <sub>50</sub> -Werten (MTT Zytotoxizität Assay) unter Verwendung von A2780 und A2780adr Zellen. ....   | 104 |
| Tabelle 5.5: Korrelationskoeffizienten der GI <sub>50</sub> -Werte ermittelt aus 4 verschiedenen Zelllinien. ....  | 104 |
| Tabelle 5.6: Inhibitorischer Effekt der zweiten Serie von Chinazolin-Chalkonen gegenüber ABCG2 ermittelt im Pheophorbid A Assay unter Verwendung von MDCK II BCRP Zellen. Ko143 (100 % Inhibition) diene als Standard zur Bestimmung der I <sub>max</sub> Werte. ....                                    | 109 |
| Tabelle 7.1: Herstellung einer 5-fach konzentrierten Lösung (500 ml) ....  | 258 |
| Tabelle 7.2: Einstellung der Parameter an den Mikroplattenreadern für den Hoechst 33342 Assay. ....  | 264 |
| Tabelle 7.3: Testparameter zur Einstellung am Mikroplattenreader im Calcein Assay. ....  | 265 |

## Abbildungsverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 1.1 Mechanismen, involviert in der Entwicklung von Multidrug Resistenz (MDR) nach Gottesman et al. (2002) [2].  | 1  |
| Abbildung 1.2: Topologiemodell eines typischen ABC Transporters.  | 3  |
| Abbildung 1.3: Topologiemodell von ABCG2.   | 10 |
| Abbildung 1.4: Strukturen ausgewählter ABCG2 Inhibitoren.   | 13 |
| Abbildung 1.5: Grundstruktur der (E)-Chalkone.  | 14 |
| Abbildung 1.6: Strukturen ausgewählter ABCB1 und ABCG2 Inhibitoren.   | 16 |
| Abbildung 1.7: Prinzip des Pheophorbid A Assays   | 17 |
| Abbildung 1.8: Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers [174].   | 19 |
| Abbildung 1.9: Prinzip des Hoechst 33342 Assays.  | 20 |
| Abbildung 1.10: Prinzip des Calcein AM Assays   | 21 |
| Abbildung 1.11: Schematische Darstellung der Reduktion von MTT zu Formazan  | 22 |
| Abbildung 3.1: Bekannte Wirkstoffe mit Pyrazol-/Pyrazolon-Grundstruktur aus der Gruppe der Nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR).  | 25 |
| Abbildung 3.2: Grundstruktur der 1H-Pyrazole  | 26 |
| Abbildung 3.3: Grundstruktur der 2-Pyrazoline   | 27 |
| Abbildung 3.4: Syntheschema der Pyrazoline: (i) LiOH, MeOH, Ultraschallbad, 4-5 h; (ii) Hydrazin-Monohydrat oder Phenylhydrazin, CH <sub>3</sub> COOH, EtOH.  | 28 |
| Abbildung 3.5: Schema einzelner Syntheseveruche zur Darstellung der Pyrazole.   | 30 |
| Abbildung 3.6: Allgemeines Syntheschema der Pyrazole: (i) MeOH, LiOH, Ultraschallbad; (ii) I <sub>2</sub> , DMSO, Mikrowelle, 100 W, 130 °C, 30 min; (iii) A: EtOH, Hydrazin-Monohydrat, CH <sub>3</sub> COOH, Ultraschallbad, 70 °C, 4-5 h oder B: MeOH, Hydrazin-Monohydrat, LiOH, Mikrowelle, 100 W, 100 °C, 30 min.     | 34 |
| Abbildung 3.7: Scatterplot der ermittelten pIC <sub>50</sub> -Werte aus dem Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zelllinie. Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert aus drei unabhängigen Experimenten. Der ermittelte quadrierte Korrelationskoeffizient (r <sup>2</sup> ) beträgt 0,914. | 38 |
| Abbildung 3.8: Effekt der Pyrazole (55-79) im Calcein AM Assay mittels ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen bei einer Konzentration von 10 µmol/l. Die Daten sind in Prozent bezogen auf den Standard Cyclosporin A angegeben und wurden n ≥ 3 getestet.  | 40 |
| Abbildung 3.9: Effekt der Pyrazole (55-79) im Calcein AM Assay mittels ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen bei einer Konzentration von 10 µmol/l. Die Daten sind in   |    |

|  |    |
|--|----|
| Prozent bezogen auf den Standard Cyclosporin A angegeben und wurden in mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.....  | 40 |
| Abbildung 3.10: Balkendiagramm zur Veranschaulichung des Effektes der Verbindungen <b>57</b> , <b>70</b> , <b>75</b> und <b>78</b> bei einer Konzentration von 10 µmol/l auf die Zellvitalität, welcher mittels MTT Assay in MDCK II BCRP Zellen (weiß) und MDCK II Wildtyp Zellen (dunkel) bestimmt wurde. Zum Vergleich diente der Standardinhibitor Ko143 und als Kontrolle dienten Zellen ohne Zusatz eines Modulators. .... | 43 |
| Abbildung 4.1: Strukturen der Dualinhibitoren (ABCB1/ABCG2) Elacridar und Tariquidar. ....   | 45 |
| Abbildung 4.2: Partialstrukturen der Acryloylphenylcarboxamide. ....   | 46 |
| Abbildung 4.3: Syntheschema der Acryloylphenylcarboxamide: (i) verschieden substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Ultraschallbad; (ii) substituiertes Säurechlorid, Überschuss Triethylamin, THF, RT. ....  | 47 |
| Abbildung 4.4: Scatterplot der pIC <sub>50</sub> -Werte in Zusammenhang mit der Inhibition von ABCG2 bestimmt im Pheophorbid A und Hoechst 33342 Assay. Jeder Punkt ist der Mittelwert aus mindestens drei unabhängigen Experimenten. Der quadrierte Korrelationskoeffizient (r <sup>2</sup> ) beträgt 0,90 bei einer Anzahl von 16 Verbindungen. ....   | 53 |
| Abbildung 4.5: Effekt der Acryloylphenylcarboxamide ( <b>93-128</b> ) im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen bei einer Konzentration von 10 µmol/l. Die Daten (n ≥ 3) sind in Prozent gegeben, bezogen auf den Standard Cyclosporin A (100 %). ....   | 54 |
| Abbildung 4.6: Effekt der Acryloylphenylcarboxamide ( <b>93-128</b> ) im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen bei einer Konzentration von 10 µmol/l. Die Daten (n ≥ 3) sind in Prozent gegeben, bezogen auf den Standard Cyclosporin A (100 %). ....  | 54 |
| Abbildung 4.7: Dosis-Effekt Kurve der Verbindung <b>120</b> (gefüllte Kreise) im Vergleich zum Standard Cyclosporin A (nicht gefüllte Kreise) ermittelt im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zelllinie. ....   | 56 |
| Abbildung 4.8: Scatterplot der IC <sub>50</sub> -Werte (µmol/l) ermittelt im Calcein AM Assay für die Inhibition von ABCB1 und im Pheophorbid A Assay für die Inhibition von ABCG2. Jedes Quadrat steht für den Mittelwert der IC <sub>50</sub> -Werte (n ≥ 3) und die Fehlerbalken für die Standardabweichung. ....   | 57 |
| Abbildung 4.9: Balkendiagramm der Zytotoxizität ausgewählter Verbindungen ermittelt im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP Zellen (weiß) und MDCK II Wildtyp Zellen (dunkelgrau). Die Balken veranschaulichen die Zellvitalität in % bei einer fixierten Konzentration von 10 µmol/l der Substanzen. Die Daten wurden aus mindestens 3 unabhängigen Experimenten bestimmt. ....  | 59 |

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 4.10: Repräsentative Verschiebung der Dosis-Effektkurve der SN-38 Zytotoxizität unter Einfluss des Inhibitors <b>124</b> . Die Pfeile veranschaulichen die konzentrationsabhängige Sensitivierung von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38. Der Effekt des Acryloylphenylcarboxamides wurde bei 0,1 $\mu\text{mol/l}$ (Dreieck) und 0,5 $\mu\text{mol/l}$ (Rhombus) untersucht. Zum Vergleich dienten ABCG2 überexprimierende MDCK II BCRP Zellen (Kreis) und MDCK II Wildtyp (Quadrat) mit SN-38 und ohne Zusatz des Inhibitors.....       | 60 |
| Abbildung 4.11: Syntheschema der 4'-Methoxy-substituierten (links), 4',5'-Dimethoxy-substituierten (Mitte) und 4',6'-Dimethoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide (rechts):<br>(i) a) $\text{BCl}_3$ , $\text{AlCl}_3$ , ACN, DCM, 0 °C, anschließend Reflux bei 80 °C für 20 h, b) bei 0 °C 2N HCl zugeben, Rühren bei 80 °C für 30 min; (ii) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Ultraschallbad; (iii) verschieden substituierte Säurechloride, Triethylamin, THF, RT, 12 h. ....  | 63 |
| Abbildung 4.12: Screening der Methoxy-substituierten Acryloylphenylcarboxamide im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zelllinie bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ . Der Effekt ist gegeben in Prozent, bezogen auf die Kontrollsubstanz Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition), und wurde aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt. ....   | 69 |
| Abbildung 4.13: Screening ausgewählter 4'-Methoxy-substituierter Acryloylphenylcarboxamide im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCC1 überexprimierenden H69AR Zelllinie bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ . Der Effekt ist gegeben in Prozent, bezogen auf die Kontrollsubstanz Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition), und wurde aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt. ....  | 69 |
| Abbildung 4.14: Balkendiagramm der ermittelten Zellvitalität (%) ausgewählter Verbindungen im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie. Gegeben sind die gemittelten prozentualen Werte der Zellvitalität bei einer fixierten Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ des Inhibitors (aus $\geq 3$ unabhängige Experimenten). ....   | 72 |
| Abbildung 4.15: Repräsentative Verschiebung der Dosis-Effektkurve der SN-38 Zytotoxizität unter Einfluss des Inhibitors <b>129</b> . Die Pfeile veranschaulichen die konzentrationsabhängige Sensitivierung von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38. Der Effekt des Acryloylphenylcarboxamides wurde bei 0,1 $\mu\text{mol/l}$ (Rhombus) und 0,5 $\mu\text{mol/l}$ (Dreieck) untersucht. Zum Vergleich dienten die ABCG2 überexprimierenden MDCK II BCRP (Kreis) und MDCK II Wildtyp Zellen (Quadrat) mit SN-38 und ohne Zusatz des Inhibitors. .... | 73 |
| Abbildung 4.16: Effekt ausgewählter Acryloylphenylcarboxamide auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität in isolierten ABCG2-enthaltenden Sf9-Membranen bei einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ . Die Daten wurden gemittelt aus mindestens drei unabhängigen Experimenten. ....   | 76 |
| Abbildung 4.17: Grundstruktur der Acryloylphenylcarboxylate .....  | 76 |

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 4.18: Syntheschema der Acryloylphenylcarboxylate: (i) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Ultraschallbad, 4-5h; (ii) verschieden substituierte Säurechloride, Triethylamin, THF, RT, 12 h.....   | 77 |
| Abbildung 4.19: Screening der Acryloylphenylcarboxylate an ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen (Abb. Links) und ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen (Abb. Rechts) im Calcein AM Assay bei einer Konzentration von 10 µmol/l. Die Effekte sind in Prozent gegeben, bezogen auf den Standard Cyclosporin A (Cs A, 100 % Inhibition) und aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ermittelt.....      | 79 |
| Abbildung 4.20: Konformation der Verbindung <b>129</b> mit Amidfunktion (A) und <b>153</b> mit Esterfunktion (B). Sauerstoffatome sind Rot, Stickstoffatome Blau, Wasserstoffatome Hellgrau und Kohlenstoffatome Gelb eingefärbt. ....   | 81 |
| Abbildung 4.21: Gegenüberstellung der Acryloylphenylcarboxylate zu den Acryloylphenylcarboxamiden. Die Verbindungen <b>153</b> und <b>129</b> unterscheiden sich lediglich in der Linkerfunktion und dienen somit exemplarisch für den Vergleich beider Substanzklassen. ....  | 82 |
| Abbildung 5.1: Allgemeine Struktur der Chinazoline .....   | 83 |
| Abbildung 5.2: Struktur von Prazosin und Gefitinib mit Chinazolingerüst. ....  | 84 |
| Abbildung 5.3: Grundstruktur der Chinazolin-Derivate entwickelt durch Kapil Juvele [184].....  | 84 |
| Abbildung 5.4: Darstellung der Verknüpfung zweier Leitstrukturen zum Heterodimer, dem Chinazolin-Chalkon.....  | 85 |
| Abbildung 5.5: Syntheschema der an Position 2 unsubstituierten Chinazolin-Chalkone: (i) 150 °C, 8-10 h; (ii) POCl <sub>3</sub> , Reflux, 9 h; (iii) 3'- oder 4'-Aminoacetophenon, Isopropanol, 1-2 h, Reflux; (iv) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Mikrowelle (120 W, 100 °C), 30 min. R = H oder 6,7-OCH <sub>3</sub> . ....  | 87 |
| Abbildung 5.6: Syntheschema der Methode B zur Darstellung von 2-substituierten Chinazolin-Chalkonen: (i) DMF, Iod, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 70-90 °C, 4-5 h; (ii) POCl <sub>3</sub> , 9 h, Reflux; (iii) 3'- oder 4'-Aminoacetophenon, Isopropanol, 1-2 h, Reflux; (iv) substituiertes Benzaldehyd, LiOH, MeOH, Mikrowelle (120 W, 100 °C), 30 min.....  | 88 |
| Abbildung 5.7: Struktur-Wirkungsbeziehung der an Position 2 unsubstituierten Chinazolin-Chalkone.....  | 92 |
| Abbildung 5.8: Struktur-Wirkungs-Beziehung der an Position 2 mit Phenyl- oder 3,4-Dimethoxyphenyl-substituierten Chinazolin-Chalkone.....  | 92 |
| Abbildung 5.9: Lineweaver-Burk-Diagramm des ABCG2 Inhibitors <b>205</b> bei unterschiedlichen Konzentrationen des ABCG2 Substrates Pheophorbid A. Die verwendeten Inhibitorkonzentrationen liegen bei 0 µmol/l (gefülltes Dreieck); 0,031 µmol/l (gefüllte Raute); 0,1 µmol/l (gefüllter Kreis); 0,18 µmol/l (nicht gefüllter Kreis); 0,31 µmol/l (nicht gefülltes Dreieck) und 0,56 µmol/l (weiße Raute)..... | 93 |

|  |     |
|--|-----|
| Abbildung 5.10: Effekt der Chinazolin-Chalkone bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCB1 überexprimierenden A2780adr Zellen. Die Daten wurden normalisiert auf den Standard Cyclosporin A (Cs A, 10 $\mu\text{mol/l}$ ), welcher als 100 % Inhibition definiert wurde. ....  | 94  |
| Abbildung 5.11: Effekt der Chinazolin-Chalkone bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ im Calcein AM Assay unter Verwendung der ABCC1 überexprimierenden H69AR Zellen. Die Daten wurden normalisiert auf den Standard Cyclosporin A (Cs A, 10 $\mu\text{mol/l}$ ), welcher als 100 % Inhibition definiert wurde. ....   | 94  |
| Abbildung 5.12: Scatterplot der $\text{IC}_{50}$ -Werte ( $\mu\text{mol/l}$ ) ermittelt im Calcein AM Assay für die Inhibition von ABCB1 und im Pheophorbid A Assay für die Inhibition von ABCG2. Jedes Quadrat steht für den Mittelwert der $\text{IC}_{50}$ -Werte ( $n \geq 3$ ) und die Fehlerbalken für die Standardabweichung. ....  | 96  |
| Abbildung 5.13: Effekt der Chinazolin-Chalkone auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität in isolierten ABCG2-enthaltenden Sf9 Membranen bei einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ . Die Daten wurden mindestens als Triplikate ermittelt und sind als Mittelwert $\pm$ SD gegeben. ....   | 97  |
| Abbildung 5.14: Vergleich der Effekte zweier ausgewählter Chinazolin-Chalkone auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität in isolierten ABCG2-enthaltenden Sf9 Membranen. Die Datenpunkte für die Verbindungen <b>200</b> (gefüllte Kreise) und <b>205</b> (gefüllte Quadrate) sind gegeben als Mittelwert $\pm$ SD. Kontrollwerte veranschaulichen die Aktivität in Abwesenheit der Modulatoren (nicht gefülltes Dreieck), in Anwesenheit von Quercetin (nicht gefülltes Quadrat) als Positivkontrolle und in Anwesenheit von Ko143 (nicht gefüllter Kreis) als Negativkontrolle. .... | 98  |
| Abbildung 5.15: Akkumulation der Verbindung <b>197</b> in parenteralen MCF-7 MX Zellen und MCF-7 Zellen visualisiert im Konfokal Laser Scanning Mikroskop. A: Verb. <b>197</b> in MCF-7 Zellen; B: in MCF-7 MX Zellen; C: Pheophorbid A in MCF-7 Zellen; D: Pheophorbid A in MCF-7 MX Zellen; E: Pheophorbid A der Verbindung <b>197</b> in MCF-7 MX Zellen [212]. ....  | 100 |
| Abbildung 5.16: Aufnahme der intrazellulären Fluoreszenzkonzentration von Verbindung <b>197</b> bestimmt in regelmäßigen Zeitintervallen in parenteralen MCF-7 (nicht gefüllte Quadrate) und MCF-7 MX Zellen (gefüllte Quadrate). ....   | 101 |
| Abbildung 5.17: Balkendiagramm zur Illustrierung des Einflusses der synthetisierten Chinazolin-Chalkone bei einer fixierten Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ auf die Zellvitalität von MDCK II BCRP (weiß) und MDCK II Wildtyp (dunkelgrau) Zellen. Die Untersuchung erfolgte im MTT Assay und die ermittelten Daten ( $n \geq 3$ ) wurden auf die Kontrolle normalisiert (100 %). ....  | 102 |
| Abbildung 5.18: Repräsentative Verschiebung der Dosis-Effektkurve der SN-38 Zytotoxizität unter Einfluss des Inhibitors <b>205</b> . Die Pfeile veranschaulichen die konzentrationsabhängige Sensitivierung von MDCK II BCRP Zellen gegenüber SN-38. Der Effekt des Chinazolin-Chalkons wurde bei 0,01 $\mu\text{mol/l}$ (nicht gefüllte Kreise) und 0,1 $\mu\text{mol/l}$ (gefüllte Kreise) untersucht. Zum Vergleich dienten ABCG2 überexprimierende MDCK II BCRP (nicht gefüllte  |     |

|  |     |
|--|-----|
| Dreiecke) und MDCK II Wildtyp Zellen (gefüllte Quadrate) mit SN-38 und ohne Zusatz des Inhibitors. ....  | 105 |
| Abbildung 5.19: Effekt der Chinazolin-Chalkone Serie 2 bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ im Calcein Assay unter Verwendung der A2780adr (ABCB1) und H69AR (ABCC1) Zellen. Die Daten liegen normalisiert vor, wobei die Inhibition durch Cyclosporin A (Cs A, 10 $\mu\text{mol/l}$ ) als 100 % definiert wurde. Gegeben sind die Mittelwerte $\pm$ SD berechnet aus mindestens drei unabhängigen Experimenten. Linkes Balkendiagramm: ABCB1 Screening, rechtes Balkendiagramm: ABCC1 Screening. .... | 110 |
| Abbildung 5.20: Intrinsische Zytotoxizität der Verbindung <b>214</b> ermittelt im MTT Assay unter Verwendung der MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinie bis zu einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ über 72 Stunden. MDCK II BCRP: geschlossener Kreis, MDCK II Wildtyp: geschlossenes Quadrat. ....  | 111 |
| Abbildung 5.21: Grundstruktur der Chalkone in der E- (links) und Z-Konfiguration (rechts). ....  | 112 |
| Abbildung 5.22: Darstellung der Photoisomerisierung der Verbindung <b>198</b> im $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ) Spektrum unter Tageslichteinwirkung nach 0 Stunden (A), 24 Stunden (B) und 8 Tagen (C). Rote Markierung: Verdeutlichung der Entstehung der Z-Konformation neben der E-Konformation. ....  | 115 |
| Abbildung 5.23: UV/Vis Spektrum der Verbindung <b>198</b> . Blaue Linie: alte DMSO Stammlösung in MeOH. Grüne Linie: neue DMSO Stammlösung in MeOH. ....   | 116 |
| Abbildung 7.1: Standard Pipettierschema einer 96 Well Mikrotiterplatte für den Pheophorbid A und auch Hoechst 33342 Assay. ....  | 263 |
| Abbildung 7.2: Pipettierschema für 96-Well Mikrotiterplatten im MTT Zytotoxizitäts Assay. ....   | 267 |



## Publikationen

### Wissenschaftliche Originalarbeiten

**Kraege, S.\***; Stefan, K.\*; Juvalé, K.; Ross, T.; Willmes, T.; Wiese, M. The combination of quinazoline and chalcone moieties leads to novel potent heterodimeric modulators of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *117*, 212–229.

**Kraege, S.**; Köhler, S. C.; Wiese, M. Acryloylphenylcarboxamides: A New Type of Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) Modulators. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 2422-2435.

**Kraege, S.**; Stefan, K.; Köhler, S. C.; Wiese, M. Optimization of the Acryloylphenylcarboxamides as Inhibitors of ABCG2 and Comparison to Acryloylphenylcarboxylates. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 2547-2558.

### Poster und Kongressbeiträge

Stefan, K.\*; **Kraege, S.\***; Juvalé, K.; Wiese, M. The combination of quinazoline and chalcone moieties leads to novel potent inhibitors of Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2). *FEBS Special Meeting: ATP-Binding Cassette (ABC) Proteins*, Innsbruck, **2014**. (Poster)

**Kraege, S.\***; Stefan, K.\*; Wiese, M. The advancement of substituted quinazoline-chalcones as potent, selective and less toxic inhibitors of Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2). *SFB-Symposium*, Wien, **2015**. (Poster)

(\* gleichberechtigte Erstautoren)



## **Verfassererklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den verwendeten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche gekennzeichnet.

Bonn, September 2017

Stefanie Kraege